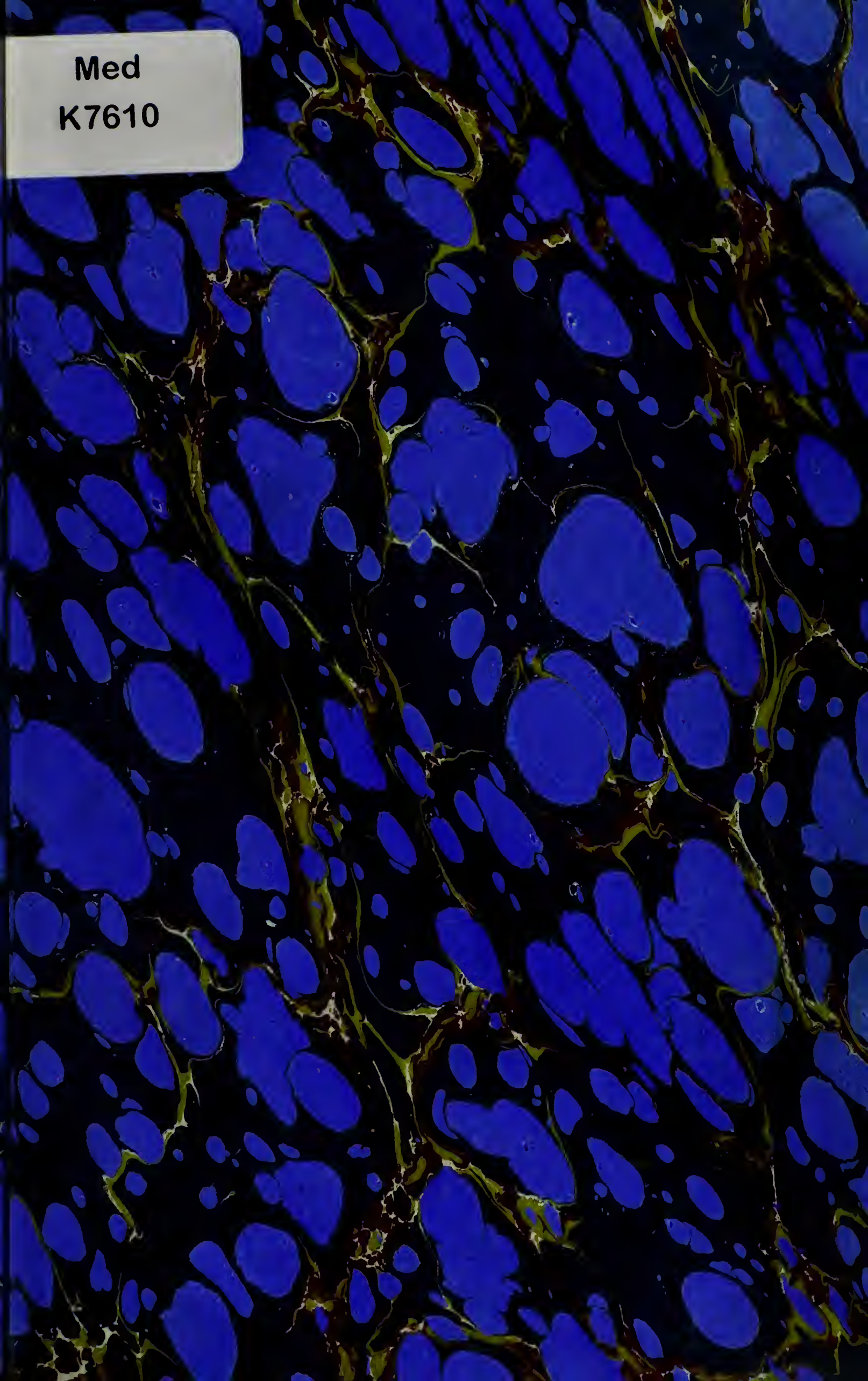




22101420440

Med
K7610



GUIDE
DANS
L'EXAMEN MICROSCOPIQUE
DES
TISSUS ANIMAUX

PAR

Le Professeur S. EXNER

ASSISTANT A L'INSTITUT PHYSIOLOGIQUE DE VIENNE

Traduit de l'allemand sur la deuxième édition (1878)

PAR LE

D^r F. SCHIFFERS

ASSISTANT A L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE

AVEC 7 FIGURES DANS LE TEXTE

PARIS

Adrien DELAHAYE & C^{ie}

ÉDITEURS

Place de l'École de médecine, 23.

LIÈGE

H. VAILLANT-CARMANNE

IMPRIMEUR

Rue St-Adalbert, 8.

[1879]

14 841 086

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	weIMOmec
Call No.	
	QS

PRÉFACE DE LA PREMIÈRE ÉDITION.



Ce guide répondit d'abord à mes propres besoins. Dans les cours d'histologie, que je donne aux commençants, de même que dans le laboratoire, où je travaille comme assistant, je dois naturellement parler si souvent du même objet, passer en revue les mêmes méthodes, les mêmes modes de préparation, etc., que je songeai au moyen d'épargner mon temps et mes poumons.

Au début, je facilitai ma tâche, en dictant aux élèves certaines formules, la manière de traiter les coupes, de les colorer, etc. Il me parut cependant bientôt permis d'essayer de réunir ces quelques notes et de les livrer à la publicité.

Dans la composition de ce travail, j'ai jugé bon de ne pas m'en tenir exclusivement aux modes d'examen histologique employés chez nous. J'ai cru au contraire qu'il était nécessaire d'indiquer les méthodes plus difficiles, qui sortent du cadre des études universitaires, surtout où il s'agit de démontrer les rapports déterminés qu'il y a dans la structure d'un organe et ainsi de suite.

Si celui qui n'est plus un commençant, trouvait dans ces notes quelque renseignement utile, qu'il veuille bien en rapporter tout le mérite à l'institut physiologique auquel j'appartiens et non à moi.

Quand dans un laboratoire, comme c'est le cas à Vienne, on a travaillé et produit en histologie, sans interruption, depuis

près d'un quart de siècle, certaines méthodes et certains procédés, dont l'origine n'est souvent plus même à rechercher, deviennent alors traditionnels et épargnent à l'occasion de longs détours et des insuccès.

Pour ce qui concerne la disposition du sujet, je me suis décidé à suivre la même marche que dans nos travaux histologiques, à décrire chaque méthode, où elle est employée pour la première fois, et à remédier à l'éparpillement inévitable des méthodes semblables par un index détaillé et une table alphabétique. De cette façon, le livre pourra, je crois, être facilement consulté.

Le sujet varie suivant l'espèce d'impression. Ce qui est imprimé en grand, contient, suivant l'usage employé ici, la tâche du commençant, qui veut connaître l'objet de notre science; ce qui est en petits caractères, contient les indications et les méthodes pour ceux qui sont plus avancés.

Je n'omettrai pas de faire remarquer expressément qu'en composant ce guide, je me suis figuré l'élève muni d'un traité d'histologie et travaillant sous le contrôle d'un maître. Je considère en effet, ici, comme en général du reste, l'instruction cherchée seule, même en s'aidant d'un petit manuel, comme très inefficace, sinon impossible.

Finalement je ferai observer que je n'ai, dans ce travail, nommé les auteurs que quand leur nom est devenu celui d'une méthode, d'un appareil, etc. — J'ai agi ainsi, d'abord parce que je considérais les noms comme superflus pour le but que je me proposais, ensuite parce que, dans certains cas, la question de la priorité d'une découverte est excessivement difficile à résoudre.

Vienne, le 1^{er} février 1873.

PRÉFACE DE LA DEUXIÈME ÉDITION.

Dans cette édition, je n'ai pas perdu de vue le but que je m'étais proposé avec la première. Elle est augmentée notablement par les nouvelles méthodes, qui ont été publiées depuis que mon livre a vu le jour; il y a aussi quatre figures en plus. J'ose espérer que ce petit travail répondra sous cette nouvelle forme au but modeste qu'il poursuit.

Hollenburg-sur-le Danube, le 27 juillet 1878.

J. EXNER.

PRÉFACE DU TRADUCTEUR.

Les études microscopiques ont pris de nos jours une importance incontestable et incontestée. Il n'est pas de médecin, même parmi ceux qui s'adonnent exclusivement à la pratique, qui ne sente la nécessité de s'initier à cette branche des sciences médicales. C'est le complément indispensable de toute instruction solide et aussi parfaite qu'il est possible de l'acquérir de nos jours. Guidé par cette pensée, nous avons été amené à faire connaître au public médical français l'ouvrage du Professeur Exner, qui peut le mieux satisfaire le désir de quiconque veut diriger ses études dans ce sens. De même que le commençant, le médecin déjà au courant de la microscopie y trouvera des enseignements utiles. Dans ce petit livre, qui s'annonce beaucoup trop modestement pour ce qu'il vaut, ils trouveront réunies la plupart des indications, que renferment des traités volumineux, mais qu'il est seulement donné d'aborder à des spécialistes, c'est-à-dire à ceux qui peuvent consacrer la plus grande partie de leur temps à cette étude.

Docteur SCHIFFERS.

Liège, le 25 mai 1879.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages.
Instruments	1
Boîte de dissection. — Pipettes. — Petite cuiller en fil d'archal. — Loupe. — Lunettes pour dissections. — Le repassage des rasoirs.	
I. Maniement du Microscope.	2
Choix et maniement des lentilles. — Révolver. — Immersion. — Mica au lieu de lamelles de verre. — Mise au point. — Interprétation des images du même objet avec mise au point différente. — Eclairage.	
Détermination du pouvoir grossissant d'un microscope.	
Finesse des images microscopiques. — Objets de contrôle.	
Détermination de la grandeur véritable d'un objet vu au microscope	
Dessin et détermination du grossissement d'un dessin.	
II. Examen des tissus.	10
SANG.	—
Corpuscules rouges du sang. — Leur aspect sous le microscope. — Addition de réactifs. — Oikoid et Zooid des corpuscules sanguins de tritons. — Consistance des corpuscules du sang démontrée par l'inclusion dans de la colle. — Corpuscules sanguins sous des secousses électriques. — Porte-objet électrique. — Chambre à gaz. — Corpuscules blancs du sang. — Cristaux d'hémoglobine. — Cristaux d'hémine. — Circulation du sang dans la membrane natatoire, les poumons, le péritoine, la langue de grenouille, dans la queue des poissons.	

	Pages.
CARTILAGE	16
De la manière de faire la coupe — Rejeter l'eau comme liquide d'examen. — Action de la glycérine. — Fermeture avec la glycérine au moyen d'une bordure de bitume de Judée, de ciment anglais, etc. — Action d'enserrer les préparations pour faire les coupes. — Ossification.	
OS.	21
Décalcification. — Aiguillage des os.	
DENTS.	22
Aiguillage.	
MUSCLES	23
Fibres musculaires vivantes, striées transversalement. — Compresseur. — Liquides à ajouter aux tissus vivants : Serum iodé, humeur aqueuse, solution de sel marin, serum sanguin, liquides séreux, etc. — Corpuscules des muscles. — Acide acétique et acide tartrique. — Disques de Bowmann. — Fibrilles musculaires. — Fermeture des préparations dans la résine dammar. — Choix de l'huile de térébenthine. — Diaphragme. — Microscope à polarisation. — Fibres musculaires dans la lumière polarisée, dans le champ visuel coloré par des lamelles de mica, — Développement des fibres musculaires striées transversalement. — Liquide de Müller. — Macération. — Sarcoblastes. — Fibres musculaires lisses. — Leur isolement.	
ÉLÉMENTS NERVEUX.	54
Différentes espèces de fibres nerveuses. — Acide osmique. — Division des fibres primitives des nerfs. — Terminaisons des fibres nerveuses dans le muscle. — Cellules nerveuses. Recherche du ganglion de Gasser de la grenouille. — Cellules ganglionnaires des ganglions spinaux.	
TISSU CONJONCTIF	58
Dissociation des tendons en fibres par les réactifs. — Corpuscules de tissu conjonctif. — Disposition des fibrilles de tissu conjonctif dans les différents organes. — Tissu conjonctif embryonnaire.	
FIBRES ÉLASTIQUES.	40
Distinction avec les fibres de tissu conjonctif par l'acide acétique. Méthodes de coloration pour ces fibres. — Ligament de la nuque.	

	Pages.
GRAISSE	41
Pouvoir de réfraction de la graisse. — Cellules de graisse sans graisse.	
ÉPITHÉLIUMS.	41
Épithélium aplati de la langue, de la cornée; épithélium cylindrique de l'intestin, épithélium à cils vibratiles du palais et de la cavité nasale de la grenouille. — La coupe des cellules vibratiles vivantes. — Endothéliums. — Coloration par l'argent.	
III. Examen des organes.	45
PEAU.	—
<p>Traitement par l'acide acétique et la créosote pour la durcir. — Direction des coupes. — Coloration avec le carmin. — Préparation et usage de la solution. — Traitement des coupes colorées. — Double coloration avec l'acide picrique et le carmin. — Simple coloration avec l'acide picrique. — Représentation des glandes sudoripares, sébacées, des corpuscules de Pacini, de Meissner, etc. — Durcissement de la peau dans l'alcool, par la congélation, par l'acide chromique. — L'inclusion de préparations durcies dans la paraffine, dans la cire et l'huile, dans la cire, la stéarine et l'huile. — Inclusion sous la machine pneumatique. — Inclusion dans du savon, gomme arabique, dans la gomme et la glycérine, dans la moëlle de sureau. — Peau injectée. — Masses à injection. — Préparation du bleu de Prusse soluble. — Masse de bleu de Prusse avec colle. — Injection avec la seringue. — Autres masses à injection : Masse de carmin avec colle. — Autres méthodes d'injection : Appareil de Hering. Injection avec les bouteilles de Wulf. — Injection spontanée de la grenouille. — Traitement des coupes injectées.</p>	
APPAREIL DE LA DIGESTION.	62
<p><i>Cavité buccale</i>, Durcissement à l'acide chromique. — Papilles de la langue. — Bourgeons gustatifs. — <i>OEsophage</i>. — <i>Estomac</i>. — Digestion pour l'isolement des glandes. — Représentation des deux espèces de cellules des glandes à pepsine avec le carmin. — Coloration avec le bleu d'aniline soluble. — Coloration avec le bleu d'aniline insoluble. — Double coloration avec le bleu d'aniline et le carmin. — <i>Intestin grêle</i>. — Follicules remplis de chyle. De même le parenchyme des villosités. Leur injection. — Plateau de l'épithélium de l'intestin grêle. — Plexus de Meissner et d'Auerbach. — <i>gros intestin</i>.</p>	

	Pages.
GLANDES DE LA DIGESTION.	67
<i>Glandes salivaires.</i> — Glandes salivaires excitées ou non. — Injection des conduits du pancréas. — Foie. — Coloration à l'hymatoxyline. — Double injection du foie. — Injection avec la solution de bitume de Judée.	
GLANDES SANS CONDUIT EXCRÉTEUR	69
Thyroïde. — Thyroïde du mouton et de la tortue. — Capsules surénales. — Glande pinéale.	
ORGANES DE LA RESPIRATION	70
Larynx. — Trachée. — Poumons. Injection avec le beurre de cacao. — Épithélium des alvéoles. — Coloration avec l'acide pyrogallique, le safran, l'extrait de noix, la fuchsine, l'éosine, le bleu d'aniline.	
SYSTÈME VASCULAIRE	71
Cœur. — Gros vaisseaux. — Coloration à l'argent. — Injection à l'argent avec injection de colle consécutive. — Petites artères, veines et capillaires.	
VAISSEAUX LYMPHATIQUES ET GLANDES	75
Injection des vaisseaux lymphatiques du mésentère et de l'intestin de la grenouille et de la tortue. — Injection des vaisseaux lymphatiques du diaphragme et des tendons. — Emploi du pinceau pour les coupes. — Injection des voies lymphatiques dans les glandes. — Rate. — Lavage de la pulpe — Thymus.	
SYSTÈME GÉNITO-URINAIRE.	75
Reins. — Méthodes d'isolement des canaux urinifères. — Injection pendant la vie. — Urètre et vessie. — Organes génitaux de l'homme. — Organes génitaux de la femme. — Coupes d'ensemble. — Conservation des coupes épaisses.	
SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	78
Moëlle épinière. — Difficulté de colorer les préparations durcies dans l'acide chromique. — Examen du réseau nerveux de la substance grise de Gerlach. — Durcissement de gros morceaux de moëlle et de cerveau. — Cerveau. — Préparation de très grosses coupes. — Microtôme. — Durcissement de cerveaux entiers ou de grandes parties de cerveau. — Eclaircissement rapide de coupes du cerveau. — Représentation du réseau nerveux de Rindfleisch-Gerlach dans le cerveau. — Vaisseaux sanguins du cerveau. — Vaisseaux lymphatiques et espaces lymphatiques du cerveau. — Leur injection.	

	Pages.
ORGANES DES SENS.	81
<p><i>O</i>eil. — Coupe d'ensemble. — Injection des vaisseaux sanguins. — Injection des espaces lymphatiques. — Traitement de la cornée. — Corpuscules de la cornée. — Nerfs de la cornée. — Coloration par l'or. — Coloration par l'argent. — Double coloration de la cornée par l'argent et l'or. — Coloration par l'iode. — Sclérotique. — Choroïde et iris. — Dissolution du pigment. — Double coloration avec le chlorure de palladium et le carmin. — Rétine. — Coupe et macération de cette dernière. — Cristallin. — Coupe et macération des fibres. — <i>Organe de l'audition</i>. — Tympan. — Montage de ce dernier dans son union avec le marteau. — Colle à verre. — Osselets de l'ouïe. — Décalcification et coupe. — Limaçon et organe de Corti. — Coupe. Canaux semi-circulaires. — <i>Organe de l'odorat</i>. — Macération de l'épithélium.</p>	
IV. Embryologie	88
Durcissement des embryons. Leurs coupes.	
POISSONS.	—
Fécondation artificielle. — Pisciculture. — Coupe. — Traitement des coupes.	
BATRACIENS	89
Conservation d'œufs en voie de segmentation. — Orientation dans les premiers stades de développement.	
OISEAUX	90
Cuvée artificielle. Flamme de gaz réglée spontanément. — Enlèvement des embryons de l'œuf.	
MAMMIFÈRES.	92
Recherche des œufs fécondés dans l'oviducte.	

INSTRUMENTS.

Sont nécessaires pour l'usage ordinaire :

Une paire de fins ciseaux et une de grands ciseaux.

Une fine pincette.

Deux porte-aiguille pourvus d'aiguilles anglaises.

Une aiguille à cataracte.

Un petit scalpel.

Des pipettes que l'on se fabrique soi même, en soufflant en boule à une place un tube en verre, que l'on effile aux deux extrémités.

Un rasoir. (Les rasoirs du fabricant d'instruments Thürriegl à Vienne sont, sous certains rapports, à préférer aux rasoirs ordinaires.) Le rasoir est repassé sur une fine pierre à aiguiser humectée d'huile, en promenant le tranchant en avant.

L'angle que sa surface forme avec celle de la pierre, doit toujours rester le même. Le rasoir est, à la fin d'un trait, tourné sur le dos, c'est-à-dire que le tranchant tourne autour du dos comme axe, et non en sens inverse. Le repassage sur le cuir n'est pas à recommander.

Une petite cuiller, avec laquelle les coupes sont enlevées du liquide. On peut le mieux se la fabriquer soi-même, en courbant la large extrémité d'une sonde métallique, ou bien en aplatissant un fil de cuivre ou de laiton à une extrémité et en le pliant à ce niveau.

Il va de soi que tous les instruments doivent être mis à l'abri du contact des acides. Si l'on doit se servir de ceux-ci, on

prendra des baguettes de verre ou des bâtons de la même substance aplatis.

Une loupe montée Les lunettes de dissection de Brücke⁽¹⁾ me paraissent mériter de beaucoup l'avantage sur les faibles loupes pour faire les préparations. Quand on s'y est habitué, c'est à peine si l'on peut s'en passer pour les fines préparations. Cette remarque s'applique en première ligne à ceux qui ont une vue normale et aux hypermétropes, cependant elles rendent aussi des services aux myopes.

I. MANIEMENT DU MICROSCOPE.

Pour visser les lentilles objectives au tube, il faut ou bien élever ce dernier suffisamment dans sa monture ou l'enlever tout-à-fait. La dernière manière est parfois plus commode, mais elle exige toujours la précaution que le tube ne soit pas incliné, de façon que l'oculaire puisse tomber.

En général, on choisit d'abord de faibles grossissements dans l'examen d'un objet ou dans sa recherche.

Si l'on fait un examen, où il faille très souvent changer de fort et de faible grossissement, on peut se servir, pour avoir plus facile, du revolver, appareil qui est vissé à la partie inférieure du tube, et porte une forte et une faible lentille, que l'on peut faire avancer alternativement, suivant le besoin. Un tel revolver ne peut naturellement être recommandé dans ce cas, que s'il est construit très exactement.

Pour les coupes à travers tout un organe, il est utile de se servir, pour l'orientation, du microscope simple avant d'en venir aux forts grossissements. De même il faut en général faire attention que l'aspect macroscopique et la figure microscopique soient toujours pour l'examineur en connexion au point de vue organique.

⁽¹⁾ Elles sont décrites dans les Archives d'ophtalmologie 1859.

L'élévation du grossissement s'obtient aussi longtemps que possible par celle de l'objectif et non de l'oculaire, parce que la première méthode fournit toujours des images beaucoup plus nettes et plus exactes.

Lentilles à immersion. On n'emploie plus maintenant que l'eau pour l'immersion. Avant que la lentille à immersion soit vissée au tube, on y porte une goutte d'eau distillée au moyen d'une pipette. La goutte doit être assez petite, pour qu'elle reste adhérente à la lentille, quand on visse cette dernière et qu'elle ne couvre absolument qu'elle. Si la goutte employée est trop grosse, il faut en aspirer une partie avec le papier buvard, qui, dans ce cas, ne doit jamais toucher la lentille elle-même, mais seulement la monture métallique. Il faut éviter ce contact, parce que d'abord des filaments de papier peuvent y adhérer, et nécessitent un nettoyage de la lentille, ce qui doit se faire le plus rarement possible, et ensuite parce que le papier contient souvent encore de l'acide silicique, qui peut faire des rayures dans la lentille.

Quand on a vissé la lentille avec sa goutte, on abaisse le tube en observant latéralement cette dernière. A son changement subit de réflexion, on reconnaît le moment où la goutte touche le couvre-objet. On peut maintenant au moyen de la vis descendre le tube davantage.

Comme la goutte reste adhérente à la lentille, on peut sans crainte déplacer l'objet entier sous cette dernière ; mais il faut bien se garder de laisser couler la goutte sur le bord du couvre-objet. Abstraction faite de tous les autres inconvénients, qu'une telle malpropreté peut entraîner à sa suite pour la lentille et l'objet, le liquide se met alors en mouvement sous le couvre-objet, au moins dans certaines conditions, et rend impossible toute observation.

Le couvre-objet adhère-t-il moins au porte-objet qu'à la lentille pour des raisons quelconques, il se produit des courants dans l'objet, lors des déplacements qu'on fait subir au premier, ou quand on élève et on abaisse le tube par la vis du micromètre, ce qui rend l'observation au plus haut degré incertaine et souvent impossible. Dans ces cas, on peut habituellement remédier à cet inconvénient par un grossissement attentif de la goutte d'immersion.

Pour les plus fortes lentilles à immersion, par exemple Hartnack n° XV, nos couvre-objet sont ordinairement trop épais ; aussi leur préfère-t-on des petites lamelles de mica, que l'on peut se procurer au moyen de plus grosses plaques à la grandeur suffisante et presque avec la finesse que l'on veut.

S'il y a de l'air entre les couches de mica, il doit d'abord être expulsé par la chaleur. Le verre, où il peut être employé, est préférable au mica, à cause de son poli et de sa propreté. Aux lentilles à immersion et aussi à certaines fortes lentilles ordinaires, il est adapté un appareil, qui a pour but de corriger une faute, produite par la diversion des rayons lumineux aux deux faces du couvre-objet. Il consiste en un anneau cannelé, qui entoure la lentille d'immersion et qui peut subir un mouvement de rotation. Si on le tourne vers l'un ou l'autre côté, deux des lentilles sont rappro-

chées ou éloignées l'une de l'autre. Pour une certaine épaisseur du couvre-objet, un degré déterminé de la correction est le plus favorable. On fait bien de noter ce degré pour chaque observation en faisant des essais. Il vaut certes mieux travailler avec des couvre-objet de même épaisseur, et avoir, une fois pour toutes, établi ce degré de correction ; cependant il serait très difficile de se procurer de telles lamelles de verre.

Plus fort est le grossissement, d'autant plus mince doit être la couche à examiner. Aussi les plus forts grossissements ne donnent-ils presque plus de très belles images que quand des objets minces sont suspendus dans un liquide, comme les corpuscules sanguins, etc.

Après avoir employé la lentille à immersion, il faut aspirer la goutte par le papier buvard.

Quand on met au point, il faut toujours faire attention au danger de toucher le couvre-objet avec l'objectif. On évitera le mieux cet inconvénient de la manière suivante :

On saisit le tube de la main droite, de façon à placer d'un côté le pouce, de l'autre l'index et le médus.

Les deux derniers doigts se fixent à la monture. Si de cette manière, on abaisse légèrement le tube par un mouvement de rotation, on évite le danger de toucher l'objet avec la lentille par une secousse brusque. Quand on a abaissé le tube suffisamment, pour que le foyer de la lentille soit près de l'objet, à en juger approximativement par la vue, on regarde par l'oculaire, et on agit de la même manière, jusqu'à ce que l'on obtienne une image effacée, nuageuse de l'objet. Alors seulement on prend la vis du micromètre de la main droite, et on la met jusqu'à ce que l'image soit complètement claire. Si l'on veut encore aller plus sûrement, pendant que la main droite abaisse le tube, avec la main gauche, on déplace continuellement le porte-objet d'un côté et d'autre, de façon qu'on reconnait, d'une part, la mise au point à peu près exacte par le mouvement de l'objet, qui devient visible à l'œil, et que de l'autre, on sent de la main gauche le contact de la lamelle avec la lentille.

On suit les mêmes règles avec les microscopes, où la mise au point toute primitive se fait par une vis.

Si l'objet que l'on observe est si petit que l'on ne peut

compter l'avoir de suite dans le champ visuel, lors de la mise au point, la chose devient un peu plus difficile. Dans ce cas, le mieux est d'utiliser comme points de repaire, lors de la mise au point, les malpropretés, qui se trouvent sur les surfaces de la lamelle et du porte-objet.

Quand on examine un objet, on le déplace, en le tenant de la main gauche entre le pouce et le médius ; la main droite élève et abaisse continuellement le tube par la vis du micromètre, pour faire apparaître clairement l'une après l'autre toutes les couches de l'objet.

La tâche la plus difficile du bon observateur repose sur l'interprétation exacte des rapports qui existent entre les différentes images, que l'on obtient du même objet à des mises au point variées.

Naturellement on ne peut acquérir de l'assurance que par un exercice attentif ; mais je veux indiquer schématiquement la façon d'interpréter. Les images qui se présentent dans la mise au point de haut en bas, peuvent être considérées comme autant de plaques minces, dans lesquelles on s'imagine l'objet découpé parallèlement à la surface du porte-objet. Le travail consiste à construire en imagination l'objet au moyen de ces plaques, dont on connaît la série successive.

Si l'on voit un point dans une certaine mise au point, et qu'il disparaisse par l'élévation et l'abaissement du tube, on a vraiment un point sous le microscope. Voit-on un point et ne disparaît-il pas dans ces conditions, on a devant soi une ligne verticale. Le point fait-il un mouvement latéral apparent, dans une mise au point différente, c'est une ligne allant obliquement vers le haut, dont il s'agit.

L'éclairage de l'objet à examiner peut se faire avec un très faible grossissement obliquement d'en haut par une lentille convexe.

Des objets opaques doivent être éclairés de cette manière.

S'il était nécessaire d'examiner, même pour de forts grossissements,

avec la lumière tombant d'en haut, on adapte alors dans le tube du microscope un miroir incliné pourvu d'une ouverture dans le milieu, qui projette par l'objectif sur la préparation la lumière arrivant par une fenêtre pratiquée dans le tube. Des rayons qui sortent de la préparation ainsi éclairée, arrivent à la manière ordinaire dans l'œil par l'ouverture du miroir.

A cause de l'insuffisance de cette espèce d'éclairage, on est porté à rendre transparents les objets dans tous les fins examens. Ils sont alors éclairés de la partie inférieure par l'ouverture de la tablette du microscope, au moyen d'un miroir. Il peut être concave ou plan ; au lieu du dernier, on emploie aussi des prismes agissant comme miroirs.

Pour les forts grossissements, la lumière en rayons parallèles du miroir plan ou du prisme peut encore être condensée sur l'objet en un foyer par une lentille, qui est adaptée dans le diaphragme (condensateur).

Pour faire usage du microscope, le voisinage d'une fenêtre n'est pas la meilleure place. Dans le fond de la chambre, les images acquièrent des contours plus nets. On reculera donc, aussi loin que possible, sans perdre l'intensité de lumière suffisante.

Pour ce qui concerne le ton de la lumière, le jaune faible est le meilleur. Les microscopes de Hartnack, de Gundlach, de Nacet, donnent ce ton par la couleur de leurs lentilles, de façon qu'on emprunte le mieux la lumière aux objets blancs avec ces microscopes : nuages clairs, muraille blanche. Le ciel bleu ne donne pas de bonne lumière. Si l'on a un microscope, dont les lentilles fournissent une lumière bleuâtre, (Merz) ou si l'on a pour s'éclairer un ciel bleu, on peut y remédier par l'emploi de verre d'urane jaune (verre de Canarie) ; si l'on est au contraire dans la situation de devoir examiner à la lumière rouge d'une flamme de gaz etc., on applique sur le miroir du microscope un verre de cobalt faiblement coloré. La force de la coloration sera égale à celle d'une faible lunette bleue protectrice.

Pour ce qui concerne les diaphragmes, on aura pour règle de les prendre aussi étroits que possible, sans enlever notablement de la lumière. De fortes lentilles supportent de plus étroits diaphragmes que les faibles.

Ordinairement le centre du miroir se trouve perpendiculaire sous le diaphragme. Pour les diatomacées et les objets analogues avec des lignes accentuées, l'éclairage dit latéral rend des services. Il consiste à éclairer l'objet, de façon qu'il se développe sur lui des ombres en inclinant le miroir à droite ou à gauche et en haut et en projetant ainsi obliquement vers le haut la lumière sur l'objet. D'étroits diaphragmes sont alors naturellement impossibles.

Pour des tissus animaux mous, cette méthode est d'une utilité douteuse, entr'autres, parce qu'elle produit facilement des images erronées.

Détermination du pouvoir grossissant d'un microscope.

On peut seulement poser ainsi la question sur le pouvoir grossissant d'un microscope. Combien de fois l'image rétinienne d'un objet vu par le microscope est-elle plus grande que celle du même objet vu à l'œil nu, à une distance déterminée? Hartnack et la plupart des autres fabricants, dans leurs données de grossissements, admettent $250^m/m$ pour cette distance. D'autres choisissaient comme distance, 5 pouces anglais, 10 pouces parisiens ou 8 pouces rhénans. Le choix de cette mesure est assez indifférent, si l'on indique toujours, dans la donnée du grossissement, l'éloignement auquel il doit être rapporté.

La réponse à la question posée peut être faite de différentes manières.

On se servira comme objet d'une échelle en verre divisée en m/m (comme il y en a dans le commerce). On placera à côté du microscope, à la distance donnée, une autre échelle divisée de la même manière. Si l'on regarde maintenant avec un œil par le microscope, avec l'autre à côté de lui, sur la deuxième échelle, on voit en même temps les deux, l'une agrandie, l'autre avec sa grandeur naturelle.

Après un certain exercice, on réussit à recouvrir les deux images, de sorte qu'on peut observer combien de divisions de l'une se trouvent entre deux de l'autre.

Si l'on ne réussit pas de cette manière à voir en même temps les images, on emploiera un prisme dit à dessin (camera lucida, dikatopter, etc., comme il y en a dans le commerce); par lequel les deux images en question apparaissent au même œil, de façon qu'ainsi la comparaison est plus facile.

S'il arrive qu'entre deux divisions de l'échelle vue au microscope, prennent place, par exemple, dix divisions de celle vue à l'œil nu, le microscope grossit dix fois. Se fait-il qu'entre deux dixièmes de division du premier, 50 divisions du dernier, aient place, le microscope grossit 500 fois.

Le grossissement seul n'est jamais un critérium pour la valeur d'un microscope. Elle dépend aussi de la netteté de l'image. Il est en général admis d'apprécier cette valeur avec des diatomacées comme *testobjets*.

Pour notre usage, cette méthode est à rejeter, parce qu'il existe le fait remarquable que certains microscopes, qui montrent admirablement ces objets, sont insuffisants, quand il s'agit d'un tissu organisé vivant. Il en est ainsi par exemple des microscopes de Merz.

Nous sommes donc forcés d'emprunter nos moyens d'appréciation au tissu animal frais, et nous choisissons les corpuscules de salive, qui ont aussi l'avantage d'être toujours sous la main. Un microscope, qui montre clairement le mouvement moléculaire dans l'intérieur des corpuscules frais de salive, suffit pour la plupart des examens.

Détermination de la grandeur véritable d'un objet vu au microscope.

Ici il faut de nouveau deux échelles : Une échelle divisée sur verre en millimètres ou en pouces, qui est partagée naturellement en subdivisions de grandeur connue, et un deuxième système de lignes, éloignées également l'une de l'autre, marquées sur verre, dont on n'a pas besoin de savoir l'éloignement.

La dernière échelle doit s'adapter dans l'oculaire du microscope comme le micromètre dit oculaire, et se trouver dans le plan du diaphragme. Elle doit donc, si elle est placée sur le diaphragme, regarder en bas avec le côté où se trouvent les divisions. Si l'on a un objet sous le microscope, et que l'on veuille estimer sa grandeur, on adapte d'abord le micromètre oculaire.

On a alors dans le champ visuel l'objet et la division de l'échelle. On fera attention quelle est la longueur de l'objet correspondant à ces divisions. Qu'il repose, par exemple, sur 5 divisions. On relève alors l'objet, et on le remplace par l'échelle divisée en millimètres ; on cherche de nouveau combien de divisions de celles-ci prennent place entre ces 5 du micromètre oculaire. Y a-t-il place pour 8 divisions environ dont chacune a une valeur de $1/100$ de millimètre, l'objet est grand de 0,08 mm. On peut, pour la facilité, se tracer une fois pour toutes une table, dans laquelle la valeur d'une division du micromètre oculaire est rapportée aux différentes combinaisons de lentilles.

En dehors de cette méthode, il y en a encore une deuxième pour laquelle sert l'application du micromètre dit à vis, appareil, qui se trouve chez la plupart des fabricants de microscopes.

Il consiste essentiellement en une plaque de laiton, qui sert de table porte-objet, et qui est mise en mouvement par une fine vis, sur la tête de laquelle on peut lire directement la grandeur du déplacement. L'objet est placé sur cette plaque, et un de ses points extrêmes est recouvert par le croisement du fil, que l'on a arrangé dans le diaphragme de l'oculaire. On tournera alors la vis du micromètre, aussi longtemps que l'autre point extrême de l'objet soit couvert par le fil croisé. Le degré de ce déplacement est lu sur la vis.

Dessin et détermination de la grandeur d'un dessin.

Sur la manière de dessiner les objets microscopiques, on ne peut donner par écrit d'explication. Pour dessiner des contours, on emploie souvent des prismes à dessin, la camera lucida, le dikopter, etc., tous appareils optiques, qui ont pour but de projeter en même temps sur la même place rétinienne l'image microscopique et celle de la feuille de papier, sur laquelle on doit dessiner. On voit alors la préparation microscopique étendue en quelque sorte sur le papier et on en fait les contours avec le crayon. Abstraction faite de ce que, de cette manière, on a seulement les contours, on ne peut attacher trop de valeur à une

telle méthode, comme c'est souvent le cas, parce que, si l'on n'est pas très attentif, les contours mêmes n'apparaissent pas nets mais, au contraire, défigurés. L'image microscopique est, la plupart du temps, projetée sur le papier, qui se trouve à côté du microscope, et tombe ici, si l'on peut s'exprimer ainsi, obliquement; c'est-à-dire que la surface sur laquelle on doit dessiner ne se trouve pas perpendiculaire à la direction du regard, comme l'objet lui-même. En conséquence, un carré, qui est vu dans le microscope, est dessiné comme un rhomboïde déformé. L'appareil à dessiner, que vend Hartnack, n'a pas ce défaut. Pour les autres appareils, qui servent dans ce but, avant de les acheter ou de les employer, il est à conseiller de placer dans l'oculaire ou sous l'objectif un verre, qui porte des champs divisés en carrés, et de dessiner ceux-ci vus dans le champ visuel, avec l'appareil à dessiner, pour voir s'ils ne sont pas déformés. On peut alors corriger le défaut en inclinant la surface du papier. Le plus simple de ces appareils à dessiner est une lamelle de verre, (Scheuk) qui est inclinée au-dessus de l'oculaire, et qui comme dans un miroir, laisse voir se couvrant réciproquement la feuille de papier et l'objet microscopique avec les rayons qui le traversent. Le couvre-objet doit être fixé de façon que son inclinaison puisse être changée suivant le besoin.

Cet appareil à dessiner très simple, a certes l'inconvénient que le papier doit être perpendiculaire et s'adapter à la hauteur de l'oculaire, pour que les images soient correctes; il est décrit ici, parce que chacun peut le faire avec un couvre-objet et une plaque de liège perforée.

Le grossissement d'un dessin que l'on a obtenu d'une image microscopique, se mesure, comme cela se comprend naturellement, d'après ce qui précède, en appréciant l'objet à l'œil nu, s'il est assez gros et en le comparant avec le dessin. La longueur du dessin divisée par celle de l'objet donne alors le grossissement.

L'objet dessiné est-il trop petit pour être mesuré directement, par exemple un globule de sang, on mesure d'abord sa grandeur véritable et on compare avec elle le dessin.

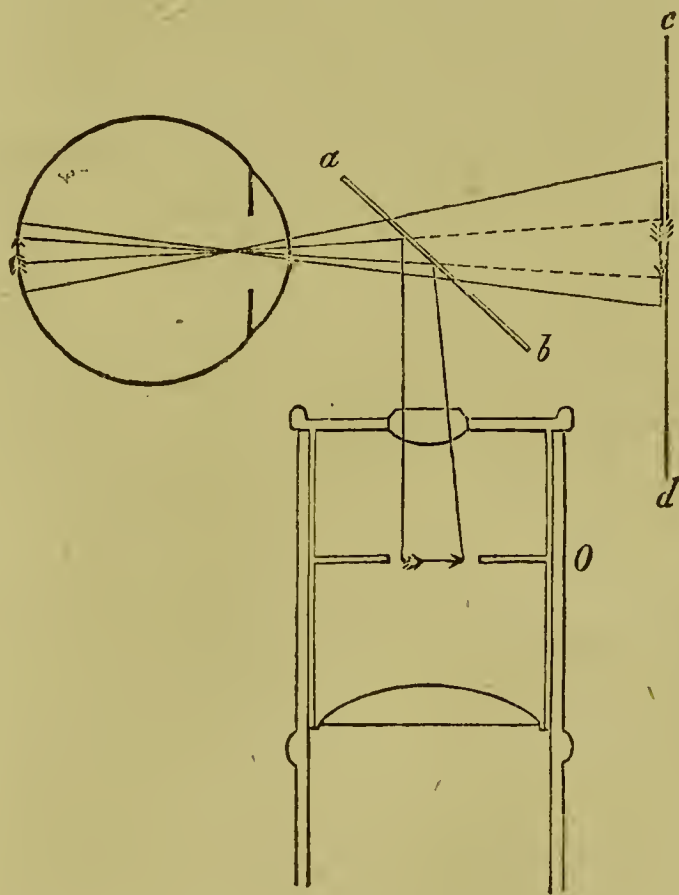


Fig. 4. — *a, b*. Couvre-objet. — *o* Oculaire du microscope. — *c, d*. Planche à dessiner avec le papier. L'image virtuelle dans le plan du diaphragme.

II. EXAMEN DES TISSUS.

Sang.

Une goutte de sang le plus frais possible est déposée sur le porte-objet et recouverte aussitôt de la lamelle de verre. Le contact du sang avec l'air pendant quelques instants change les corpuscules rouges. La goutte doit être assez petite pour ne jaillir d'aucun côté sous le couvre-objet. Il faut aussi que la couche soit assez mince sous la lamelle, au moins d'un côté, pour que l'on reconnaisse encore une coloration. Si elle est trop épaisse, on peut y remédier en déplaçant doucement le couvre-objet. On peut alors examiner sans autre soin. On choisira d'abord le sang de grenouille ou de triton, ensuite celui d'homme. Ordinairement on voit après quelque temps les corpuscules du sang prendre la forme de mûre. On distingue la forme de lentilles biconcaves des corpuscules des mammifères, par ce fait que le milieu du globule vu de face paraît sombre ou clair, suivant la mise au point, c'est-à-dire clair, si on fait descendre le tube, sombre, si on l'élève. Ce phénomène est produit, parce que le globule, à cause de sa forme, agit comme une lentille divergente, et que son foyer se trouve donc sous lui. Si l'on a ainsi adapté le tube, on le voit clair dans le milieu du globule.

Lève-t-on le tube, le foyer clair disparaît dans le milieu et le bord du globule s'éclaircit à son tour. Ceci a lieu, parce que le globule est biconvexe, et qu'il réduit comme un bâton de verre courbé en cercle, les rayons en une parabole qui est située au-dessus du globule, et est vue, par conséquent, quand le tube est élevé. Il est du reste à recommander d'être très prudent dans l'interprétation des effets lumineux de cette espèce, parce qu'alors, des réflexions compliquées et des phénomènes d'inflexion aux limites des milieux réfringents, de même

que les imperfections du microscope (l'achromasie défectueuse, etc.) peuvent donner lieu à de grossières erreurs. Si l'on veut donc avoir une idée précise du relief d'un corps, il est toujours plus sûr de le déplacer et de l'examiner de tous côtés. On y arrive le plus facilement pour les objets plus ou moins ronds, en pressant doucement sur le couvre-objet avec une aiguille. On doit alors en même temps observer l'objet.

Outre la forme de mûres que prennent les globules rouges au contact de l'air, d'autres changements caractéristiques se montrent, si l'on ajoute au sang différents réactifs. L'eau décolore les globules et leur donne la forme sphérique ; une solution d'urée a ce dernier effet et produit l'étranglement de parties globuleuses grandes et petites, telles qu'on a coutume d'en trouver dans l'urine sanguinolente. Les sels alcalins, les acides de la bile, la bile, l'éther, le chloroforme, l'alcool, etc. produisent le gonflement des globules et la sortie de la matière colorante. Pour ajouter les réactifs qui se mêlent au sang, le mieux est d'en porter une goutte sur l'un des côtés du couvre-objet, et de la mettre ainsi en contact avec le liquide sanguin sous la lamelle de verre. Alors le réactif s'avance peu à peu sous cette dernière et l'on peut observer sous le microscope la série des changements qui se produisent. Le liquide pénètre-t-il trop lentement, on peut, à l'autre côté du couvre-objet, en aspirer un peu sous celui-ci au moyen de papier buvard. Tout ceci se fait sans enlever l'objet de la tablette du microscope. On peut aussi mélanger au sang les réactifs en substance, l'agiter avec ceux-ci, ou dans d'autres cas, par exemple pour l'éther et le chloroforme, l'exposer seulement aux vapeurs.

On examinera en outre le sang d'oiseau et celui de poisson.

Pour voir l'oïkoid et le zoïd des globules sanguins de tritons, on remplira un verre à champagne avec une solution d'acide borique, à 1 1/2, 2 %, on dessèche superficiellement un triton, et on lui coupe la tête au-dessus du verre. Les gouttes de sang, qui s'échappent, tombent dans le liquide, et se réunissent au fond du verre. Avec un bâton de verre, on prend au fond une goutte de liquide (il reste toujours assez de

globules adhérents) et on l'examine à la manière ordinaire. Souvent on trouve le phénomène de la sortie du zooid tout-à-fait fini : cependant on parvient aussi à le voir encore se produire sous le microscope. Les deux éléments restent de longues heures dans le liquide susdit sans subir d'altérations.

Pour se convaincre de la consistance particulière des globules rouges, de leur extensibilité et de leur élasticité, on mêlera du sang défibriné avec de la gélatine chaude, coagulant à 55-56°, on fera, après que le liquide s'est figé, de fines coupes que l'on portera entre le porte-objet et le couvre-objet. On peut presser doucement le dernier. Si l'on a à sa disposition le contenu d'un kyste colloïde mélangé à du sang, on voit la diversité de formes que peuvent prendre ces corpuscules extrêmement délicats et extensibles.

Pour l'examen des changements que subissent les globules du sang sous l'influence des décharges électriques, un petit appareil est nécessaire. On recouvre un porte-objet au-dessus et en-de-sous avec deux lamelles d'étain, de façon que l'une enveloppe sa moitié droite, l'autre sa moitié gauche. Au milieu elles ne se touchent pas, mais elles sont — avec des extrémités taillées en pointe — si rapprochées, qu'une goutte portée sur le couvre-objet, touche les deux lamelles d'étain. Si l'on adaptait maintenant à droite et à gauche sur le porte-objet, au moyen d'une pince, un fil de laiton, il serait possible par la goutte, qui établit la communication entre les deux lames d'étain, de conduire les décharges électriques d'un appareil à roulettes. Mais les fils de laiton seraient très gênants dans les différents déplacements du porte-objet, tels qu'ils sont toujours nécessaires dans tout examen. Il s'agit donc de ne pas les porter directement sur le porte-objet et d'établir cependant la conductibilité.

Dans ce but, il y a une lame de verre qui est placée sur la tablette du microscope et sur laquelle sont collées deux stries métalliques.

Le porte-objet est placé sur cette lame de verre, de façon qu'une plaque d'étain n'est en contact qu'avec une strie métallique. A celle-ci sont fixés les fils conducteurs, et la goutte forme leur unique liaison conductrice (1).

Pour l'examen de l'effet des différents gaz sur le sang, on se sert le plus avantageusement de l'appareil suivant. Le couvre-objet ne repose pas directement sur le porte-objet, mais, entre les deux, est placé un anneau de cuivre, qui forme de cette manière une cavité en forme de tambour. Dans celle-ci pénètre, des deux côtés, par l'anneau, un petit tube, dont l'un est destiné à amener le gaz et l'autre à le faire sortir. L'anneau est bien cimenté au porte-objet. Si l'on porte une petite masse de sang sur la face inférieure du couvre-objet, et si l'on adapte exactement ce dernier à l'anneau au moyen d'un peu de graisse, le sang se trouve enfermé avec le gaz, et il peut être observé d'en haut au microscope. Le gaz devra être saturé de vapeurs d'eau avant de pénétrer dans la chambre, pour mettre le sang à l'abri de l'évaporation. Si après avoir fermé les deux tubes et

(1) Description plus détaillée et figure dans le *Traité d'histologie* de Stricker, page XVII.

porté une goutte d'eau sur le porte-objet dans l'anneau, l'on agit comme plus haut, on a une « chambre humide, » dans laquelle on peut observer des objets mis à l'abri de la dessiccation pendant longtemps.

Pour étudier plus exactement *les corpuscules blancs du sang* dans leurs propriétés vitales, le sang qui convient le mieux est celui de grenouille ou de triton. C'est le traitement ordinaire.

Les globules blancs restent plus longtemps en vie et leurs mouvements sont plus vifs, si on les chauffe.

Pour l'observation, on se sert alors de la platine chauffante. Les constructions les plus avantageuses de ces platines sont les suivantes.

Qu'on se figure ajouté ce qui suit à la chambre à gaz précédemment décrite : Que l'un des tubes conduisant le gaz soit de métal, et qu'il se trouve perpendiculaire au grand axe du porte-objet, horizontalement placé hors de la tablette du microscope.

A ce tube on peut adapter un fil de cuivre long d'un demi-pied, épais de quelques millimètres et contourné en tire-bouchon à une extrémité. Si le fil est maintenant chauffé par une lampe à alcool, la chaleur se communique au cylindre de cuivre par le petit tube, et l'espace qu'il renferme est également chauffé.

Le degré de chaleur ne peut pas être découvert exactement ; cependant pour avoir la possibilité de produire, à différentes reprises, à peu près la même température, la paroi du cylindre de cuivre est double, et entre les deux est placé le tube d'un thermomètre courbé en forme de cercle, sur l'échelle extérieure duquel on peut toujours lire la température du cylindre. Le cylindre a-t-il la température qu'il avait à une observation antérieure, on doit conclure que la goutte de sang sous le couvre-objet, a aussi à peu près la même température que dans le cas précédent, si même elle est autre que celle du cylindre. Ce porte-objet est recouvert de caoutchouc durci, et rendu ainsi maniable et moins fragile.

On peut aussi chauffer le porte-objet au moyen de l'électricité. C'est avantageux dans les séries de recherches qui durent longtemps (1).

Une autre platine chauffante consiste en une tablette en tôle, qui est placée sur celle du microscope et y est solidement fixée. Tout cet appareil est chauffé de la même façon que celui qui a été décrit plus haut. Le porte-objet est placé sur cette tablette comme sur la table ordinaire et est chauffé par sa partie inférieure. Elle est aussi pourvue d'un thermomètre.

Pour représenter *les cristaux d'hémoglobine*, on réussit le plus facilement avec le sang de cochon d'Inde, en s'y prenant de la manière suivante : Une goutte de sang est déposée sur le

(1) Voir *Traité de Stricker*, page X.

porte-objet, et, sans être couverte, est soumise à une dessiccation presque complète. Sur la tache de sang, on laisse tomber une goutte d'eau, on recouvre le tout avec la lamelle de verre et on laisse de nouveau sécher. Les cristaux se montrent après la dessiccation du liquide.

Représentation des cristaux d'hémine de Teichmann. On laisse sécher une goutte de sang sur le porte-objet. Ensuite on répand quelques fins grains de sel de cuisine, et on ajoute une à deux gouttes de vinaigre glacial. On place immédiatement le couvre-objet, avant que le vinaigre se répande. On peut placer un cheveu sous la lamelle pour obtenir plus de place pour le liquide. Le porte-objet est alors chauffé au dessus de la lampe à alcool, jusqu'à ce que le vinaigre commence à cuire, en évitant qu'il se réduise en vapeur ; il faut en même temps se garder de faire éclater le porte-objet. Quand le vinaigre commence à cuire, la préparation est finie et elle peut être examinée.

Ordinairement la plupart des cristaux se trouvent au bord du couvre-objet ou dans le voisinage du cheveu. S'agit-il de décider si une goutte desséchée, qui est soumise à l'examen, est formée oui ou non par du sang, on la racle et l'on examine la poudre obtenue, exactement comme plus haut.

Si l'on a à faire à des tâches, qui sont dans un tissu, on enlève quelques-uns des fils, qui sont fort imprégnés, et on agit de la même manière.

Naturellement dans ce cas on n'a pas besoin de cheveu.

Pour examiner le *cours du sang* sur un animal vivant, on a surtout recours à la grenouille. On empoisonne l'animal par le curare (par l'introduction sous la peau du dos du poison dissout dans de l'eau additionnée de glycérine), et lorsqu'il est tout-à-fait sans mouvement, on le place sur une plaque de bouchon. Celle-ci peut être fixée à la tablette du microscope au moyen des patins, qui s'y trouvent ordinairement, et elle porte une ouverture arrondie correspondant à celle de la tablette.

On y étend la membrane natatoire de la grenouille, en piquant les orteils avec des aiguilles. On peut alors observer sans couvre-objet ou en placer un entier ou seulement un morceau — suivant la facilité — et remplir d'eau l'espace qui se trouve entre la peau et le verre. Pour cet essai, à cause de la moindre pigmentation de la peau, la *Rana temporaria* convient mieux que la *R. esculenta*.

On peut de la même façon démontrer le cours du sang dans le poumon. Si l'on coupe assez haut latéralement la paroi thoracique de la grenouille, le poumon fait saillie de lui-même, ou il peut être attiré au dehors avec facilité. Avec des aiguilles, on l'étend sur l'ouverture de la plaque de bouchon. Il faut avoir soin de ne pas trop le tendre, parce que dans ce cas il se produit une stase dans ses capillaires. On traite de la même façon le mésentère.

Veut-on faire de plus longues observations sur une grenouille non curarisée, on la met dans une boîte de fer blanc appropriée. Hors d'une ouverture qui y a été pratiquée on tire une patte et on assujettit chaque orteil au moyen de fils, de façon que la membrane natatoire est étendue sur l'ouverture. La boîte elle-même doit être solidement fixée. Au lieu d'une plaque de bouchon on pourra se servir d'une planchette qui peut convenablement être mise sur pieds. Un objet extrêmement beau pour étudier non-seulement la circulation mais encore le tissu vivant et ses phénomènes en général, est la langue de grenouille. L'animal curarisé est placé sur une plaque de bouchon. La langue est tirée de la bouche et étendue sur le trou au moyen d'épingles. Elle peut être amincie au point de recevoir par le dessous un éclairage parfait. Par une trop forte tension, il y a stase dans les vaisseaux.

On voit très bien les contours serpigineux des vaisseaux capillaires dans la nageoire de petits poissons (5—10 centimètres de long). On les enveloppe dans du papier buvard mouillé, de façon que la queue seule dépasse, et on les place sur un porte-objet ordinaire. La queue peut être recouverte d'un couvre-objet. Les mouvements de la queue et la mort prompte sont des obstacles.

Pour étudier les rapports de la circulation, l'empoisonnement par le curare n'est pas toujours à employer; on peut alors au moyen de l'alcool mettre la grenouille dans un état où elle n'est presque plus capable de se mouvoir. Dans ce but, on la porte dans un vase dont le fond est recouvert, dans une hauteur d'environ 2 centimètres, par un mélange d'une partie d'alcool pour six parties d'eau.

La grenouille absorbe par la peau assez de liquide pour se trouver, après une heure environ, dans l'état désiré.

Pour l'examen de la circulation chez les mammifères, il y a un appareil quelque peu compliqué, donné par Stricker, que l'on doit étudier dans l'original (1).

Cartilage.

Un morceau de cartilage d'un pied de veau ou les parties cartilagineuses d'un jeune os peuvent servir à l'examen.

Il s'agit de faire les coupes les plus fines possibles. On peut aussi couper le cartilage avec le scalpel, si l'on veut ménager le rasoir.

Pour faire de fines coupes, il y a en général deux méthodes. Après s'être préparé par un trait rapide à travers la préparation une coupe de section nette, c'est-à-dire une surface complètement unie, on peut placer la lame du rasoir à plat sur cette dernière et la faire avancer rapidement sans l'abaisser. Il est possible de cette façon d'avoir une coupe mince.

D'une autre manière, on peut appliquer le rasoir, avec précaution, contre la préparation et, en observant continuellement la coupe, faire la section très lentement et avec prudence. Chaque fois qu'on s'aperçoit que la lame se lève, on doit l'abaisser, et vice-versa. Dans la première méthode, le rasoir est tout-à-fait libre dans la main, dans la seconde, on doit le tenir ferme.

La première méthode est la plus commode mais la moins sûre, s'il s'agit de ne pas dépenser le matériel; on obtient en peu de temps un très grand nombre de coupes, dont la plupart sont trop épaisses; de sorte qu'on ne peut rien en faire, mais dont quelques-unes sont très minces, telles que la seconde méthode n'aurait pu les fournir. Cette dernière donne après un certain exercice des coupes sûres; aussi est-elle la seule à recommander quand il s'agit de décomposer un organe en une

(1) Wiener Medic. Jahrbücher. 1871, p. 123.

série régulière de coupes. Naturellement dans les deux méthodes, la réussite dépendra en première ligne du degré d'exercice.

Sur la lame il doit toujours y avoir du liquide, et la règle exige que la coupe aussitôt finie y soit suspendue. C'est absolument nécessaire pour éviter la destruction des coupes fines. Si les coupes sont placées dans l'eau, comme pour le cartilage, la lame en sera recouverte ; on rencontre alors quelques difficultés, parce que ce liquide sur l'acier se ramasse toujours en gouttes.

Les coupes sont enlevées de la lame avec un pinceau et lavées dans l'eau.

Quand on en a fait un nombre suffisant, on cherche les meilleures, et on en porte une ou deux dans une goutte d'eau — sous la dénomination d'eau, il s'agit naturellement toujours d'eau distillée — que l'on a déposée préalablement sur le porte-objet. L'enlèvement des coupes se fait ou bien avec la petite cuiller (p. 1), ou pour celles qui sont très délicates, avec une aiguille qui doit servir à les pêcher, à la façon dont est suspendue sur la corde le linge à sécher. La préparation est recouverte du couvre-objet et peut être examinée immédiatement.

Pour prendre des gouttes et les porter sur la lame de verre, on se sert toujours d'un bâton de verre. Il est commode d'adapter ce dernier dans des petites bouteilles à réactif, qui sont fermées par un bouchon ; celui-ci est percé d'une ouverture dans laquelle est fixé le bâton qui plonge dans le liquide. On tire alors le bouchon avec le bâton, et de cette manière on prend les gouttes. Il y a aussi dans le commerce des petites bouteilles, dont le bouchon de verre va en s'effilant à son extrémité. C'est naturellement encore plus commode.

Je ferai aussitôt remarquer ici que le cartilage est du petit nombre des tissus animaux, qui peuvent être mis à l'état frais en contact avec l'eau. Mais ce procédé n'est pas non plus permis, s'il s'agit de fins détails de texture.

L'eau agit, en modifiant à un haut degré les tissus animaux frais ; aussi doit-on avoir pour règle de ne jamais les mettre en contact avec ce liquide. Le lavage d'un organe, que l'on fait si souvent avant de l'examiner ou de le faire séjourner dans un liquide durcissant, est tout-à-fait à rejeter.

Si la coupe de cartilage n'est pas assez mince pour un examen approfondi, ou si pour d'autres causes, elle est trop peu transparente, on peut l'éclaircir dans la glycérine.

Le phénomène de la transparence donnée aux objets se produit dans les mêmes conditions que celles qui rendent claire une tâche humide faite sur du papier et traversée par la lumière. La quantité de lumière, qui traverse la coupe est naturellement d'autant plus grande qu'elle en rejette moins. Mais à chaque surface limitante des deux milieux, il est réfléchi d'autant moins de lumière que la différence des exposants de réfraction de ces deux corps est plus petite. La coupe est-elle imbibée d'eau, il y a une réflexion chaque fois que le rayon de lumière pénètre d'une particule d'eau dans le corps organisé. Y a-t-il de la glycérine au lieu d'eau, comme le corps organisé a un indice de réfraction relativement élevé, et que la glycérine en a un plus fort que l'eau, la différence à chaque face de réflexion est moindre. La quantité de lumière réfléchie est donc plus petite, et celle qui passera sera plus grande que si l'eau était le liquide qui imprègne le tissu. Il ressort de là que la première condition d'un liquide d'éclaircissement est un exposant élevé de réfraction (1). L'éclaircissement dans la glycérine se fait le mieux en portant les coupes dans un verre de montre rempli de ce liquide; mais ordinairement il suffit aussi de mettre la coupe dans une goutte de glycérine que l'on a déposée sur le porte-objet.

(1) D'autres liquides d'éclaircissement, dont il sera question plus loin, agissent par voie chimique, en modifiant certains éléments des tissus, par exemple le tissu conjonctif, qu'ils rendent transparent comme du verre.

On voit alors déjà à l'œil nu, si la coupe est complètement imbibée. Cela fait, elle est recouverte du couvre-objet et elle peut être examinée.

Pour conserver longtemps de telles préparations, on doit enlever la glycérine du porte-objet partout où il n'est pas en contact avec le couvre-objet. Comme il est extrêmement difficile de bien débarrasser la lame de verre de la glycérine, on aura soin que la goutte ne soit pas trop grosse pour suinter sous la lamelle, quand on l'applique sur le porte-objet. Il doit être tout-à-fait sec dans ces parties. On fait alors autour de la lamelle de verre, une bordure de bitume de Judée, qui partout (1), empiète un peu sur elle. Cette résine demande plusieurs jours, même des semaines pour sécher ; aussi faut-il laisser la préparation tranquille, et avant tout mettre le couvre-objet à l'abri de toute pression.

Cette méthode de conservation, que l'on emploie aussi pour d'autres préparations, est la plus commode, mais elle a de très grands inconvénients. La glycérine suinte facilement par des fissures qui sont dans l'asphalte ; les préparations deviennent peu à peu trop transparentes ; si le porte-objet était encore un peu humecté de glycérine, le bitume ne tient pas, ce que l'on remarque souvent, seulement quand la préparation est gâtée, enfin dans la meilleure glycérine, les coupes macèrent dans le cours des années, etc.

Une partie de ces inconvénients est évitée, si l'on a ajouté à la glycérine un soupçon de créosote, que l'on ait encadré ensuite le couvre-objet avec la résine d'Ammar, et étendu, après des semaines, sur cette dernière qui est séchée, une couche très mince d'une solution alcoolisée de mastic. Cette dernière empêche la résine d'Ammar de nuire à cause de sa viscosité, qui

(1) Le bitume est dissout dans la térébenthine, de manière à former une masse de la consistance du miel. On peut chauffer doucement pour obtenir une dissolution plus rapide.

n'est jamais complètement disparue. La créosote produit une meilleure conservation de la préparation.

On peut du reste, comme liquide de fermeture, au lieu de la résine d'Ammar et de l'asphalte, employer également la gomme-laque et le ciment anglais (1), la paraffine rendue liquide et des produits analogues.

L'avant dernier a l'avantage de tenir plus longtemps, mais l'inconvénient de sécher encore plus lentement.

Pour les raisons citées, la méthode de fermeture avec la résine d'Ammar, qui sera donnée plus tard, est de beaucoup préférable à celles qui ont été indiquées. Mais pour le cartilage, elle n'est pas d'un emploi avantageux, parce qu'elle éclaircit tellement fort, qu'on ne peut bientôt presque plus rien voir des cellules, si la coupe n'est pas colorée.

Si l'on veut couper le cartilage de l'oreille, on éprouvera de la difficulté, parce que l'on ne peut pas bien le prendre en main à cause de sa minceur. On a recours, dans ces cas, à l'artifice suivant.

On place la lame de cartilage entre deux morceaux de moëlle de sureau (moëlle des branches du sambucus nigra), que l'on serre fortement avec les doigts, quand on fait les coupes. C'est encore plus commode, si l'on serre les deux morceaux de sureau avec le cartilage dans une mordache, et si l'on coupe. Le cartilage ne doit pas dépasser la surface de section ; il faut plutôt faire chaque coupe en même temps par le cartilage et la moëlle de sureau.

Si l'on n'a pas de moëlle de sureau, on peut lui substituer du bon bouchon. Pour les préparations plus molles, ces substances ne sont pas à employer. Le foie durci dans l'alcool rend dans ce cas parfois de bons services, comme moyen d'inclusion. Naturellement ces méthodes grossières ne sont indiquées que quand il s'agit d'examen peu délicats.

Pour étudier *le processus de l'ossification*, on fera une section au moyen du scalpel — le rasoir se gâte trop dans ce cas — à

(1). Le ciment anglais servant à la fermeture des préparations, est préparé en mélangeant une partie d'oxyde de zinc récemment recuit, avec trois parties de baume de Canada chauffé. Ce ciment a beaucoup d'avantages ; il n'est pas surtout si cassant que l'asphalte, mais il doit, chaque fois avant son emploi, être un peu chauffé. Il me paraît mériter l'avantage sur l'asphalte, au moins pour les préparations à la glycérine.

la limite de l'épiphyse et de la diaphyse d'un jeune os quelconque. On choisira comme direction de la coupe, d'abord celle qui est parallèle au grand axe de l'os, et ensuite celle qui lui est perpendiculaire.

Traitement et conservation comme plus haut. Il va de soi que l'on peut aussi colorer le cartilage par les méthodes qui seront indiquées plus tard.

Os.

Pour avoir d'abord une vue d'ensemble de la structure d'un os, il est utile de couper des os décalcifiés. On met un morceau d'os frais dans de l'acide chlorhydrique dilué (5-8 volumes d'acide chlorhydrique fumant sur 100 volumes d'eau) et on l'y laisse assez longtemps (quelques jours pour qu'il soit complètement ramolli). Ensuite on enlève l'acide au moyen de l'eau. La coupe et la conservation se font comme pour le cartilage.

Pour conserver les éléments des tissus, il vaut beaucoup mieux placer les os dans une solution d'acide picrique dans l'alcool ou dans une solution aqueuse d'acide chromique ; mais alors la décalcification se fait beaucoup plus lentement. Dans les deux cas, on doit prendre de grandes quantités de liquide, par exemple pour une phalange, un litre d'eau et environ un gramme d'acide à l'état solide. Le liquide est renouvelé tous les 3-4 jours. Dans du vinaigre de bois concentré, les os sont également bien décalcifiés. On recommande de les laisser d'abord séjourner quelques jours dans l'alcool, et de les mettre seulement alors dans le liquide, qui doit leur enlever la chaux.

Sur des os ainsi traités, on voit bien la structure lamelleuse, mais les dessins délicats des corpuscules osseux ne sont pas distincts. Pour les étudier, il est nécessaire de limer sur un os dur de très minces lamelles. Voici comment : D'un os compact (fémur ou humérus), on se procurera au moyen d'une scie à contourner une lamelle aussi mince que possible. Plus grand est l'os, mieux cela vaut. On doit aussi faire attention de prendre en même temps la substance corticale de l'os.

Cette lamelle est alors aiguisée sur une plaque de verre rude

recouverte de pierre-ponce en poudre et d'eau, en lui imprimant un mouvement de côté et d'autre avec la pulpe du doigt. La lamelle osseuse est souvent retournée. Il faut aussi éviter qu'elle reste moins fine d'un côté que de l'autre, en plaçant toujours le doigt sur la partie la plus épaisse.

Quand la lamelle est devenue de cette manière assez mince, pour qu'après avoir été imbibée d'eau et placée sur la pulpe du doigt, elle laisse entrevoir très clairement les stries du tact, on la débarrasse avec soin de la pierre-ponce en la lavant avec de l'eau. On la porte ensuite au moyen d'un pinceau sur une fine pierre à repasser, sur laquelle on la polit comme précédemment, mais sans pierre-ponce. Cette opération sert à faire disparaître les inégalités de surface produites par cette dernière. Chaque grain de pierre-ponce produisant une éraillure sur la surface, il faut les éviter avec soin. Le limage est fini, quand on ne voit plus aucune ligne au microscope. On l'enferme dans la glycérine ou l'eau avec la résine d'asphalte.

Il est à recommander de faire une coupe longitudinale et une coupe transversale d'un os creux. Naturellement il suffit de faire des segments et non la coupe transversale complète.

Dents.

Les dents peuvent aussi être limées. Mais on ne peut, comme pour les os, scier une lamelle de la dent. On l'obtient le mieux de la façon suivante. Sur l'une des bases d'un bouchon, on laisse tomber assez de gomme-laque pour que, si l'on y place la dent et qu'on l'enfonce dans cette dernière qui est molle, elle disparaisse presque entièrement. Par la chaleur, et en ajoutant de la gomme-laque, la dent y est littéralement enterrée. Y est-elle solidement incluse, on lime l'une des moitiés avec la gomme-laque qui l'entoure. On se sert d'une grosse pierre à repasser, le mieux d'une pierre ronde, tournante; cette opération va assez vite. Après s'être convaincu que la section limée est unie,

on ramollit avec soin la gomme-laque, on enlève la dent, et on l'inclut de nouveau en sens inverse, pour la limer de la même manière de l'autre côté.

La lamelle restante est assez mince, si la couleur de la gomme-laque se laisse apercevoir à peu près comme elle luirait à travers une partie humide de papier buvard blanc.

Il faut en même temps toujours faire attention que la partie limée ait partout à peu près la même épaisseur. Si l'ampoule de la dent y occupe une place telle qu'elle se trouve dans le sens de toute la longueur, il y a du danger de la voir éclater.

Quand on sera assez avancé, on chauffera de nouveau la gomme-laque avec soin, on enlèvera la partie limée, on la repassera ensuite avec la pierre-ponce, puis on la polira, comme on l'a fait pour les os. Le mode de conservation est aussi le même. Comme les os, les dents peuvent aussi être décalcifiées dans l'acide chlorhydrique ou mieux dans l'acide picrique ou chromique, puis coupées.

Muscles.

On peut très facilement observer à l'état vivant *les fibres musculaires striées transversalement*. Voici comment : On ouvre avec précaution, au moyen de ciseaux et d'un couteau, l'enveloppe de chitine du haut de la cuisse de l'hydrophilus piceus. Le muscle contenu dans l'enveloppe ne doit pas être froissé. Il est soulevé; un morceau est enlevé avec des ciseaux et déposé sur le porte-objet dans une goutte d'une solution de ClNa , à 0,7 %, un peu dissocié avec l'aiguille et recouvert de la lamelle de verre sur laquelle on peut exercer une légère pression. Si cette opération est faite avec assez de soins et vite, on trouve presque toujours quelques fibres musculaires sur lesquelles se montrent des ondes de contraction.

Si l'on a un compresseur (appareil consistant en deux plaques de verre enchassées, dont les montures portent des tours de

vis qui permettent de les rapprocher l'une de l'autre, de façon qu'un corps compris entre les deux est écrasé), on fait bien de séparer un peu les fibres musculaires dans celui-ci, puis d'examiner. Comme liquide à employer dans l'examen des tissus animaux frais, il n'est permis qu'exceptionnellement de recourir à l'eau pure, comme il a été dit plus haut. On emploie ici ou la solution de ClNa ($3/4 - 1\%$) ou l'humeur aqueuse ou le sérum iodé (1). En outre, le sérum du sang, le liquide du péricarde ou du péritoine rendent de bons services. De même la salive, l'urine, le blanc d'œuf de poule dilué peuvent être employés en cas de nécessité.

Aux extrémités coupées des fibres musculaires fraîches, on voit saillir le contenu hors du sarcolemme. Pour avoir une belle image de ce dernier, on déchire transversalement des muscles vivants, et on dissocie à ce niveau.

Pour voir distinctement les corpuscules des muscles, on ajoute à la préparation fraîche une goutte d'acide acétique, d'une concentration telle qu'il soit déjà désagréable à l'odeur. Au lieu de cet acide, on peut toujours employer une forte solution d'acide tartrique.

L'acide acétique et d'autres acides végétaux ont la propriété de faire apparaître distinctement les noyaux des tissus animaux, et ils sont employés dans ce but. En même temps ils produisent un gonflement et un trouble dans le tissu conjonctif, circonstance très avantageuse, s'il s'agit de reconnaître clairement des parties, qui sont cachées par des traînées de cette substance.

La fibre musculaire se sépare en disques de Bowmann, si on la place dans de l'acide chlorhydrique d'une concentration

(1) Celui-ci est préparé avec l'eau de l'amnios d'embryons de ruminants, (ou bien avec d'autres liquides sérenx) en mêlant à ce liquide environ 6 gouttes de teinture d'iode forte pour une once, de façon que le liquide ait une couleur de vin. La solution pâlit de nouveau ; quand ceci a eu lieu, on doit de nouveau ajouter de la teinture d'iode.

telle que pour 1,000 parties d'eau, il y ait une partie d'HCl gazeux. On prépare le plus facilement cette solution, si l'on détermine le poids spécifique de l'HCl du commerce, et si de là, on fixe sa valeur pour cent, d'après des tables, qui se trouvent dans tout traité de chimie (1), et qu'on le dilue plus ou moins dans l'eau.

Le morceau de muscle gonfle dans le liquide, et montre après quelques jours — le temps varie suivant les muscles — quand on le dissocie dans l'eau, une grande tendance à se diviser en ces disques. On choisira à cet effet des muscles du squelette de mammifères.

Pour voir la division des fibres musculaires en fibrilles, on choisira des muscles de grenouilles ou d'hydrophilus, qui sont placés, si possible pendant des années, dans de l'alcool pas trop fort. Ils sont dissociés et examinés dans l'eau. On voit très souvent alors les terminaisons nerveuses dans les fibres primitives des muscles.

Ces préparations peuvent être conservées longtemps dans la résine d'Amarr. Pour cela, on place d'abord dans l'alcool fort les fibrilles à monter, puis après environ une heure, dans la térébenthine, et de là quelques minutes plus tard dans une goutte de résine d'Amarr, (2) que l'on a préalablement déposée sur le porte-objet. Sur le sommet de la goutte, on place le couvre-objet, qui, par son poids, étend cette dernière de façon qu'elle remplit finalement tout l'espace, qui se trouve entre les deux verres. La préparation doit rester plusieurs jours dans une position horizontale, jusqu'à ce que la résine d'Amarr, au bord du couvre-objet, soit assez dure pour que l'ongle en pressant dessus n'y adhère plus.

(1) Gmelin 4^e édition. Vol. 1, page 744.

(2) La résine d'Amarr pourrait être préférée au baume du Canada usuel. Elle est moins ramollie par la chaleur, et elle a, si elle est bien préparée, l'avantage d'être incolore. Les peintres se servent des deux journellement.

Comme pour l'usage que nous en faisons, il est avantageux que la résine d'Ammar ait la consistance du miel, il est habituellement nécessaire d'épaissir celle du commerce en la laissant séjourner à l'air. Si elle devient trop épaisse, on peut la diluer dans la térébenthine.

On peut dissoudre de la résine d'Ammar ou du mastic dans le chloroforme, et l'on obtient de cette façon un vernis d'inclusion, qui est d'un très bon usage ; cependant l'espoir d'avoir de cette manière un vernis séchant plus vite, n'a pas été tout-à-fait réalisé.

A propos de cette manière de monter les préparations, qui, dans presque tous les cas, est la plus avantageuse, quelques indications peuvent encore être nécessaires.

Le sens du traitement précédent est le suivant :

La préparation est placée dans l'eau, et elle doit aller dans la solution térébenthinée de la résine d'Ammar. Elle doit être imprégnée de cette dernière et faire corps avec elle à la manière des insectes enfermés dans l'ambre, pour durer longtemps et devenir transparente. Comme la térébenthine ne se mélange pas avec l'eau, si l'on plaçait immédiatement la préparation de l'eau dans le d'Ammar, elle n'en serait non seulement pas imprégnée, mais encore l'eau se formant en gouttelettes nagerait dans la solution térébenthinée, et troublerait la vue de l'image.

Il faut donc d'abord enlever l'eau de la préparation, ce qu'on obtient en la plaçant dans l'alcool. Ce dernier attire l'eau à lui et pénètre lui-même dans la préparation. Mais la résine d'Ammar ne se mêle pas non plus avec l'alcool. La préparation doit être encore mise dans la térébenthine, qui se mêle avec l'alcool et pénètre dans la préparation. Ce n'est qu'alors que cette dernière est propre à être imprégnée de la résine d'Ammar, qui, maintenant, de son côté, se mêle avec la térébenthine et la chasse de la préparation.

La règle, d'après laquelle il n'est jamais permis de porter une préparation dans un liquide qui ne se mêle pas avec celui qu'elle contient, se rencontrera souvent. Il ne faut jamais la perdre de vue.

L'huile de térébenthine ordinaire du commerce rend les pré-

parations dures et cassantes, même après un court séjour ; elles s'enroulent, de sorte qu'elles apportent des obstacles lors de la fermeture.

Elle perd ces mauvaises propriétés, si elle est exposée longtemps à l'air et si elle est devenue jaunâtre et plus consistante. Il faudra donc l'employer dans ces conditions. Plus tard nous apprendrons à connaître la térébenthine de Venise, qui a passé par les mêmes modifications, à un degré encore plus prononcé.

J'ai à peine besoin de mentionner que la résine d'Amman est choisie comme moyen de fermeture à cause de son fort pouvoir de réfraction. La solution sera assez épaisse, pour qu'une goutte déposée sur le porte-objet y reste fixe comme une sorte de coupole. Si l'on y place la préparation à monter, elle continue alors parfois à surnager sous la pression du couvre-objet, ou elle est même éloignée de la lamelle. On remédie en partie à cet inconvénient, en portant d'abord seulement une petite goutte de dammar sur le porte-objet, en y plaçant la préparation et en déposant alors une deuxième goutte. De cette façon, la préparation est située plus profondément, et est moins influencée par les mouvements du liquide.

Dans les préparations délicates, la pression du couvre-objet est à craindre. C'est pourquoi l'on adapte entre le porte, et le couvre-objet un diaphragme. Il consiste en un papier à fleurs, et il a la forme donnée ci-joint. Ce diaphragme est placé sur le porte-objet, après qu'on y a déposé la goutte, de la manière qui a été indiquée. La section à l'un des côtés sert à laisser passer les vésicules d'air, que l'on peut avoir emprisonnées et que l'on dispersera plus loin sous le couvre-objet par une pression que l'on y exerce.

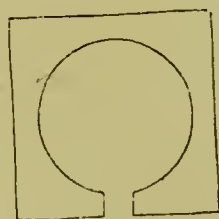


Fig. 2.

On peut facilement se procurer les diaphragmes en grande quantité, en perçant avec l'emporte-pièce une feuille de papier à fleurs convenablement pliée.

Le diaphragme ne dépassera pas le bord du couvre-objet.

Je ferai encore observer que, si la résine d'Ammar est trop fluide, par l'évaporation de la térébenthine, des vésicules d'air pénétreront sous le couvre-objet. On doit dans ce cas en ajouter après quelques jours, en portant à côté du couvre-objet une goutte, qui est alors attirée d'elle-même sous celui-ci.

Les fibres musculaires striées transversalement montrent des phénomènes particuliers sous le microscope à polarisation.

Ce dernier prend naissance du microscope ordinaire, par ce fait qu'on laisse passer par un prisme de Nicol, la lumière réfléchiée par le miroir, avant qu'elle rencontre la préparation, et après qu'elle l'a traversée. Le premier est ordinairement adapté dans l'ouverture du diaphragme de la tablette du microscope, le second dans le tube ou l'oculaire. La dernière disposition est la meilleure. J'essaierai d'indiquer clairement de quelle manière se passent les phénomènes optiques dans un tel microscope, quand on l'emploie à la manière ordinaire.

Je me figure que je suis assis devant le microscope à polarisation, et que je laisse tomber par son miroir la lumière sur le Nicol inférieur. Elle pénètre par le diaphragme — il n'y a encore aucune préparation sur la tablette — et par la lentille objective dans le tube. Supposons que j'ai tourné mon Nicol inférieur, de façon que son plan oscillatoire soit parallèle à mon plan frontal, la lumière arrivée dans le tube est polarisée, de manière que les particules d'éther y oscillent dans la direction du front, c'est-à-dire de droite à gauche et vice versa. Dans le tube ou l'oculaire, ces ondes lumineuses rencontrent le second Nicol, et peuvent le traverser librement, si son plan oscillatoire se trouve de nouveau transversal. Mais s'il est antéro-postérieur, elles sont toutes absorbées, et il ne pénètre pas du tout de lumière par le Nicol supérieur.

On dit: dans les Nicol parallèles, le champ visuel est clair, et sombre, dans ceux qui sont croisés.

Si j'ai un champ visuel clair, et si je tourne un peu le Nicol supérieur, il ne devient pas aussitôt sombre. Il s'assombrit bien plus seulement un peu; et si je tourne davantage, il devient tout-à-fait insensiblement plus sombre, jusqu'à ce qu'il le soit complètement, après une rotation de 90°. Son plan oscillatoire, se retrouve alors précisément de nouveau antéro-postérieur. Si je tourne encore plus, il redevient peu à peu plus clair, jusqu'à ce qu'il ait atteint de nouveau sa clarté première, après avoir fait de rechef la rotation de 90°. La lumière qui a pénétré dans le plan d'oscillation du Nicol supérieur, oscille toujours.

Qu'arrive-t-il maintenant, si nous portons entre les deux Nicol une fibre musculaire? Les sarcos éléments de celui-ci constituent des corps à un axe, réfractant doublement, c'est-à-dire dans lesquels chaque rayon

lumineux, qui y pénètre — à moins de tomber parallèlement à l'axe optique — est divisé en deux, qui s'éloignent toujours davantage l'un de l'autre en avançant, et qui sont polarisés. Le plan dans lequel les particules d'éther de l'un oscillent, se trouve perpendiculaire à celui dans lequel oscillent les particules d'éther de l'autre.

Figurons-nous maintenant, avec notre Nicol inférieur placé transversalement et notre supérieur antéro-postérieur, une fibre musculaire située sur le porte-objet obliquement suivant la longueur, par exemple, de la partie gauche et antérieure, (du côté de la fenêtre) vers la partie droite et postérieure (du côté de l'observateur), il arrivera ceci : le rayon oscillant transversalement rencontre la fibre musculaire, et est divisé en deux. Le plan d'oscillation de ces rayons est déterminé par la nature de la fibre musculaire ; l'un des rayons doit toujours osciller parallèlement à l'axe optique, c'est-à-dire à la direction longitudinale de la fibre musculaire ; la direction d'oscillation des particules d'éther de l'autre rayon doit être perpendiculaire à la première. Deux sortes de lumière remplissent donc le tube ; l'une oscille de la partie gauche et antérieure vers la partie droite et postérieure (antérieur et postérieur dans le sens indiqué) et vice-versa dans le même plan ; l'autre oscille de la partie gauche et postérieure vers la partie droite et antérieure et réciproquement.

Ces deux sortes de lumières rencontrent le Nicol supérieur horizontal.

Celui-ci n'est impénétrable pour aucune d'elles, puisque, comme nous l'avons vu, il n'absorbe complètement que de la lumière, qui oscille tout-à-fait transversalement. Donc de chacune des deux sortes de lumières une partie traverse, et est alors naturellement changée en lumière oscillant horizontalement.

Comme les deux Nicol sont croisés, le champ visuel est sombre, et il paraît seulement clair, où se trouve la substance à double réfraction de la fibre musculaire. Celle-ci paraît donc claire sur un fond sombre.

C'est autre chose, si la fibre musculaire n'est pas située obliquement, mais, par exemple, tout-à-fait transversalement. Alors il n'existe pour ainsi dire du matériel dans le rayon oscillant transversalement par le Nicol inférieur que pour l'un des rayons, qui oscille parallèlement à l'axe de la fibre musculaire, car celui-ci se trouve également transversal maintenant. Pour l'autre rayon, qui devrait osciller horizontalement, il n'y a aucun matériel dans la lumière qui pénètre, et qui oscille transversalement. Il ne se forme donc pas du tout, et dans le tube il ne pénètre que de la lumière oscillant transversalement, qui est maintenant tout-à-fait absorbée par le Nicol supérieur. Le champ visuel paraît donc tout-à-fait sombre. C'est la même chose, si la fibre musculaire est située tout-à-fait horizontalement.

Si l'on fait des coupes transversales de muscles, et si on les place à la façon de cylindres sur le porte-objet, elles ne paraissent pas non plus claires avec des Nicol croisés, parce qu'alors la lumière pénètre parallèlement à l'axe optique.

Dans ce cas, une division en deux rayons n'a pas lieu du tout ; la

lumière, qui pénètre, agit donc comme si les fibres musculaires n'avaient pas de double réfraction.

Il faut encore parler des phénomènes de coloration avec les corps doublement réfringents.

Revenons au cas dans lequel nous avons placé la fibre musculaire obliquement entre les deux Nicol dirigés transversalement. On ne reconnaît sur celle-ci aucune coloration frappante. Mais elle apparaît, si au lieu d'une fibre musculaire, on en prend un faisceau, et si l'on rend ainsi plus épaisse la couche de substances doublement réfringentes.

Ceci provient de ce que les deux rayons, qui se sont développés d'un seul dans la fibre musculaire, ne s'avancent pas également vite ; l'un est en retard sur l'autre.

Ce retard ne serait pas remarqué à l'intérieur du tube, puisque les deux sortes de lumière oscillant perpendiculairement l'une sur l'autre, suivent un chemin indépendant. Mais elles viennent au Nicol supérieur transversal, et de chacun des deux rayons oscillant obliquement, une partie oscillant transversalement peut seulement pénétrer.

Ces deux portions de rayons oscillent à présent dans le même plan, et c'est la condition sous laquelle un renforcement ou un affaiblissement réciproque entre les rayons peut avoir lieu. Nous savons que, si le retard d'un rayon comporte une demi-longueur d'onde, où les deux rayons pénètrent dans le Nicol supérieur, chaque onde concave d'un rayon devrait se rencontrer avec l'onde convexe de l'autre rayon, et que ces deux devraient en conséquence, se compenser.

Les parties doublement réfringentes du muscle apparaîtraient donc noires avec une épaisseur telle de la couche musculaire, que l'un des rayons y serait retardé d'une demi-longueur d'onde. Ce n'est pas maintenant le cas, parce que la lumière qui pénètre, ne possède pas une longueur d'onde déterminée, comme nous le supposons à présent, mais beaucoup plutôt, parce qu'elle consiste en deux sortes de lumière de longueur d'onde différente. La couche musculaire par son épaisseur pourra donc toujours éteindre complètement seulement l'une de ces traînées d'onde par interférence, et comme les sortes de lumière de longueur d'onde différente représentent les couleurs, il ne se perdra toujours par interférence qu'une couleur de la lumière blanche pénétrante. Le muscle apparaîtra avec cette coloration, qui se développe, si l'on enlève de la lumière blanche précisément cette couleur, donc avec la couleur complémentaire de celle-ci.

Ainsi se passe le phénomène, si les fibres musculaires se trouvent entre les Nicol dirigés dans le même sens. Les Nicol sont-ils croisés, le muscle apparaît aussi coloré, et il montre toujours la couleur complémentaire de celle qu'il avait prise, à cause de son épaisseur, dans les Nicol ayant la même disposition. Ceci repose sur une particularité pour la compréhension de laquelle une courte analyse du phénomène est nécessaire. Revenons encore aux rapports, quand les Nicol sont dirigés dans le même sens ; nous supposons que le plan d'oscillation du Nicol inférieur apparaisse vu d'en haut comme la ligne *a b*.

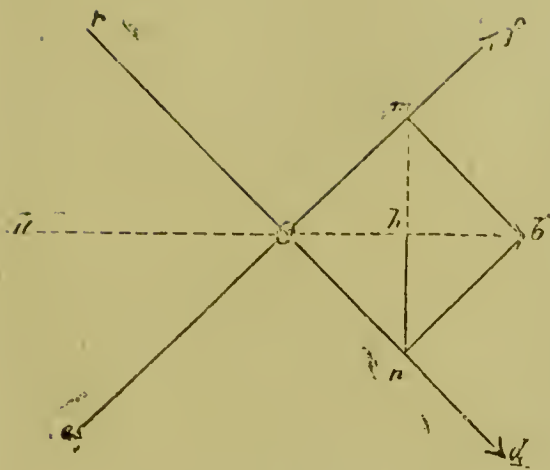


Fig. 3.

(Fig. 5.) La fibre musculaire est placée de manière que ses deux plans d'oscillation $c d$ et $e f$ forment chacun avec $a b$ un angle de 45° (1). Un rayon, qui dans le Nicol inférieur jette en deçà et au delà les particules d'éther dans la direction de la flèche $a b$, est divisé en deux rayons dans le muscle et cela d'après les lois du parallélogramme des forces, de sorte que l'un oscille dans la direction $e f$, l'autre dans la direction $c d$; $o b$ est donc décomposé en $o m$ et $o n$.

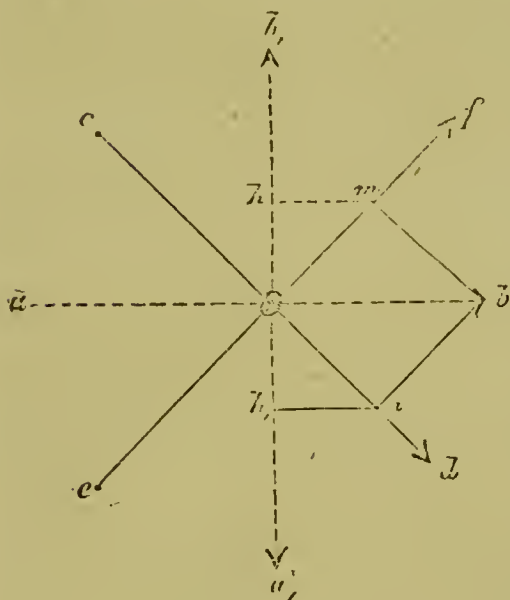


Fig. 4.

Ces deux rayons viennent maintenant au Nicol supérieur dont le plan d'oscillation est aussi $a b$.

Des deux, il reste une portion construite aussi d'après les principes du parallélogramme des forces, à savoir de $o m$ la partie $o h$, de $o n$ une partie qui coïncide dans le dessin avec $o h$. L'on remarquera que, d'après cette construction, dans laquelle nous poursuivons la décomposition du mouvement de o vers h , les deux portions de $o n$ et de $o m$ dans le Nicol supérieur ont la même direction. à savoir de o vers h , de sorte qu'elles peuvent donc se renforcer réciproquement.

Les choses se passent tout-à fait autrement dans les Nicol croisés. Le rayon du Nicol inférieur $a b$ (fig. 4) est naturellement de nouveau décomposé en $o m$ et $o n$. Or le plan d'oscillation du Nicol supérieur est maintenant $a' b'$, et, si nous construisons de nouveau, d'après les principes du parallélogramme des forces, les parties des deux rayons qui échappent pour le plan $a' b'$, nous obtenons $o h$ et $o h'$. Tandis qu'auparavant des deux rayons $o m$ et $o n$, il restait des parties oscillant également (les deux $o h$) il reste maintenant les parties $o h$ et $o h'$ qui n'agissent pas de la même manière; pendant que ceux-là se sont renforcés, ceux-ci se compensent. Donc tandis que, dans les Nicol dirigés dans le même sens, une particule d'éther avait, dans le Nicol supérieur, les deux impulsions $o h$ et les suivait, dans les Nicol croisés, elle a les impulsions opposées $o h$ et $o h'$, et pour cela reste en repos.

(1) Dans ce cas la solution du problème est la plus simple, elle donne également la clef pour la compréhension des autres cas.

Nous admettions jusqu'ici que les deux rayons n'avaient aucun retard réciproque. C'en est pas en fait le cas. Soit on retardé d'une demi-longueur d'onde du rouge sur om . Alors avec des prismes dirigés dans le même sens, la portion de rayon de on aura la direction $h-o$ dans le moment (fig. 5) où celui de om a la direction $o-h$. Ces deux rayons se compenseront donc, et le muscle apparaîtra dans la couleur complémentaire du rouge.

Dans les Nicol croisés, la portion de on oscillera dans ces circonstances précisément dans la direction (fig. 4) $h'-o$, tandis que la portion de om oscille dans la direction $o-h$. Mais ces deux directions sont les mêmes, ici les rayons rouges se renforceront, le muscle apparaîtra rouge. On peut dire la même chose de chaque coloration ; c'est pourquoi le muscle, avec des Nicol croisés, a la couleur complémentaire de celle qu'il montre avec des Nicol dirigés dans le même sens. Il résulte de ce qui a été dit qu'une couche musculaire doit modifier sa couleur, quand son épaisseur augmente, puisque la différence de marche des deux rayons dépend de cette dernière. Ce changement de couleur parcourt une série analogue à celle que montrent les couleurs du verre coloré de Newton du centre vers la périphérie. On peut constater les couleurs que le verre coloré montre à la lumière directe, si le muscle est situé entre des Nicol croisés, celles qu'il montre à la lumière transmise avec les Nicol dirigés dans le même sens.

Pour avoir des spectres colorés des muscles nets et animés, la couche épaisse de fibres musculaires, que nous devons employer, comme il a été dit, est un grand obstacle.

C'est pourquoi l'on se sert d'un artifice, qui a pour but d'observer très nettement, avec une vive couleur, une couche mince de substance musculaire ou même une seule fibre.

Si l'on place les fibres musculaires sur un corps à double réfraction, qui donne donc déjà lui-même des couleurs, le champ visuel apparaît avec cette couleur correspondante, dans laquelle la fibre musculaire tranche maintenant sur une autre (1). Comme corps à double réfraction, on emploie surtout des petites lamelles de mica, qui donnent alors des couleurs variées suivant leurs différentes épaisseurs.

Les sarcous elements ne perdent pas leurs propriétés de double réfraction, même si les fibres musculaires sont montées et conservées d'une façon quelconque. On peut ainsi monter des fibres musculaires dissociées, avec la petite lamelle de mica, dans la résine d'Ammar, et les conserver indéfiniment. Comme le mica habituellement a de l'air entre ses couches, il est nécessaire de le faire bouillir d'abord dans la térébenthine, et de le porter ensuite dans la résine d'Ammar, sans l'avoir laissé sécher. Pour décider la question de savoir si les fibres musculaires sont à double réfraction positif ou négative, il y a l'appareil de Brücke. (2)

(1) Celui qui veut s'occuper plus spécialement des phénomènes de coloration sur les corps à double réfraction, trouvera une indication facile à saisir dans la physique de Müller-Pouillet.

(2) Traité d'histologie de Stricker, page 172 et mémoires de l'Académie de Vienne. Volume V.

Pour poursuivre le *développement* des fibres musculaires striées transversalement, on placera des embryons d'animaux de différents stades dans le liquide de Müller (1), et on les y laissera macérer. Ce liquide appartient essentiellement aux liquides de durcissement, en ce sens qu'il fait coaguler les corps albumineux par son contenu en acides et en sels, et qu'il enlève l'eau aux tissus animaux. Mais si l'on n'ajoute à un tissu que ce qu'il faut de liquide pour le changer lui-même essentiellement par l'arrivée des éléments organiques, et qu'on n'y laisse pas trop longtemps la préparation, le durcissement ne s'achève pas ; les parties animales sont conservées, mais leur connexion devient plus lâche, de façon qu'elles se laissent plus tard très facilement dissocier avec des aiguilles. Pour une telle macération, on a choisi à peu près la masse exacte de liquide, en en prenant un volume double de la préparation à faire macérer. Dans ce cas, le liquide ne doit pas naturellement être changé, comme cela a lieu, quand il s'agit de durcir.

Si les embryons ou des parties de ceux-ci ont été conservés de cette manière pendant quelques semaines, ils peuvent être employés pour l'examen.

Pour voir les sarcoblastes, on choisira les muscles du dos des larves de grenouille, dont la longueur peut avoir environ 25 millimètres. Les extrémités postérieures de très jeunes grenouilles peuvent également servir dans ce but. On trouve en outre des sarcoblastes dans l'intestin des écrevisses, longues d'environ 4 centimètres.

Les *fibres musculaires lisses* ne peuvent pas être isolées à l'état frais. On réussit le plus facilement à les représenter, en dissociant, si on macère, de la façon indiquée, un morceau d'utérus, d'intestin, de vessie, d'aorte, etc. dans le liquide de Müller, ou si l'on emploie comme liquide de macération de l'acide nitrique à 20 %; celui-ci agit beaucoup plus vite que le liquide de Müller. 20 parties d'acide chlorhydrique fumant pour 80 parties d'eau ou une solution de potasse à 35 % rendent également de bons services. Pour macérer et renfermer plus tard ces muscles, de même que les fibres nerveuses, le mélange suivant peut servir :

1 vol. acide acétique (1.7 poids spécifique),

(1) Müller lui-même indique seulement la composition qualitative de son liquide de macération. Dans notre laboratoire, depuis des années, le liquide de Müller a la formule suivante :

Chromate de potasse (en substance) 100 parties, sulfate de soude 50 parties, eau 5000 parties.

- 1 vol. alcool (0.815 poids spécifique),
- 2 vol. eau distillée.

Pour avoir des notions sur les différentes formes de fibres musculaires lisses, on en isolera des gros vaisseaux qui conduisent dans le cœur, des petites artères, de la trame de la rate, de l'utérus, à l'état gravide et vierge, etc.

Éléments nerveux.

On examinera d'abord, à l'état frais, les doubles contours de fibres nerveuses sur un gros tronc nerveux.

Les fibres du sciatique de la grenouille se laissent surtout facilement isoler et conserver; on les dissocie dans une solution de sel marin à 1‰.

On est à même de voir distinctement le cylindre de l'axe, si l'on ajoute à la préparation du collodion, ou qu'on la durcisse, pour faire des coupes transversales du nerf, qui sont colorées avec du carmin, procédé dont il sera parlé plus tard. Cependant il est bien à se demander si ce que l'on voit dans ces différents cas est identique.

On obtient les fibres blanches du cerveau en dissociant un cerveau frais, ou mieux celui qui a été placé quelque temps dans l'alcool. Leurs forts soulèvements variqueux sont le produit de l'art, et apparaissent, si l'on froisse la préparation, ou si on la lèse en enlevant souvent et réappliquant le couvre-objet. La préparation doit être mélangée à l'eau.

On voit le mieux les fibres du sympathique dans une solution de chlorure de sodium à 1‰.

La moëlle des nerfs a la propriété (qui ne lui appartient pas du reste en propre), de se colorer en noir par l'acide osmique. On peut l'utiliser à l'occasion, pour rendre plus distinct le trajet des nerfs. Pour reconnaître les fibres nerveuses, elle n'est pas d'une grande importance, parce que celles qui contiennent de la moëlle, laissent habituellement peu de doute sur leur nature.

Cependant il est permis d'en parler ici.

L'acide osmique est pour beaucoup de tissus le meilleur moyen de macération, parce qu'il durcit les éléments cellulaires et fibreux sans les modifier, et permet cependant de les isoler facilement. Son emploi est un peu plus incommode que celui des autres liquides, parce qu'il est d'abord très cher, en second lieu parce que ses vapeurs irritent au plus haut degré les muqueuses des voies respiratoires; il faut donc toujours bien se garder de les respirer.

On verse un peu de la solution dans un très petit verre à pied, très effilé, de la forme d'un verre à Champagne, et on le retourne vite dans la solution.

Le fond du verre retient 2—3 gouttes, qui suffisent dans les cas ordinaires. On y place avec un crochet, qui a cette seule destination, un morceau de l'organe à examiner, dont la grosseur ne dépasse pas un demi-pois, et on recouvre de suite le vase. Quand la préparation est devenue d'un brun foncé, on injecte avec la bouteille de l'eau dans le verre — en la laissant couler de haut — jusqu'à ce qu'on puisse admettre que tout l'acide osmique est enlevé de la préparation.

C'est nécessaire, parce que dans le cas contraire celui-ci continue à agir d'une manière incalculable. On laisse alors la préparation séjourner dans l'eau. Après 2 jours, elle peut ordinairement être dissociée; on peut l'employer pendant 10—14 jours. Il va de soi que cette méthode ne sera pas exécutée de la même manière pour tous les examens.

Ces préparations sont examinées dans l'eau, conservées — à la vérité seulement pour quelques mois, alors les fins détails deviennent ordinairement moins clairs — dans une solution modérément concentrée d'acétate de potasse. Si la préparation est dans l'eau, il suffit de laisser couler une goutte de cette solution. Elles sont alors enfermées dans l'acétate de potasse au moyen de l'asphalte ou d'un des autres moyens d'encadrement.

La concentration de la solution d'acide osmique à employer varie suivant les différents buts et oscille entre 1/4—2%. Elle est d'une importance secondaire, si l'on se dirige d'après la coloration de la préparation à examiner.

On emploie aussi ordinairement l'acide osmique comme moyen de durcissement. Alors les préparations y séjournent (plusieurs jours) jusqu'à ce qu'elles soient bonnes à la coupe; puis elles sont lavées dans l'eau et coupées. Le traitement ultérieur est comme celui des autres coupes de préparations durcies.

Si l'on a l'intention de faire subir aux coupes le traitement par la térébenthine (voir plus bas article *Peau*), on place les morceaux durcis pendant quelques heures dans l'alcool, avant d'arriver à l'inclusion.

Je ferai encore remarquer que cet acide est réduit par les substances organiques, de sorte qu'on ne doit jamais verser le liquide, qui a servi dans la bouteille où il est conservé. Aussi ne faut-il toujours préparer que peu de l'acide, puisqu'il est détruit comme solution. Il faut le conserver dans un endroit frais et sombre.

La gaine de neurokératine des fibres nerveuses est représentée par leur digestion avec le suc pancréatique. (Voir digestion stomacale.)

Pour voir la division des fibres primitives des nerfs à double contour, on choisira le muscle cutané de la grenouille, que l'on trouve facilement d'après cette description. Si l'on coupe la peau d'une grenouille au niveau du sternum et du ventre par une incision médiane, on ne peut la retourner, ni à droite ni à gauche. On en est empêché par un muscle d'apparence cutanée, mince, qui fixe la peau au thorax dans le point d'union du sternum et de l'épaule, et est tendu, si l'on cherche à la soulever.

C'est le muscle que l'on cherche. Il est entièrement coupé et étendu sur le porte-objet avec une solution de soude caustique.

On voit la manière dont se terminent les nerfs dans les fibres musculaires, après avoir dissocié ce muscle. Pour l'examen des autres espèces de terminaisons nerveuses dans les muscles, les morceaux de muscles correspondants seront dissociés dans ClNa et examinés. On voit relativement facilement à l'état frais le tubercule de Doyère, si l'on dissocie le muscle de la cuisse d'un *hydrophilus piceus*, et si l'on isole les différentes fibres.

Pour étudier exactement les plaques terminales, il est bon de recourir à la coloration par le nitrate d'argent. On s'y prend le mieux de la manière suivante. Si l'on soupçonne une terminaison nerveuse dans une fibre musculaire, on l'isole à l'état frais avec des aiguilles. (L'on remarquera dans l'étude de cette méthode, que sur le plus grand nombre des fibres musculaires, qui forment le muscle gastrocnémien de la grenouille, dans le milieu de leur longueur, se trouve une terminaison nerveuse, et que ces fibres musculaires se laissent surtout facilement isoler.) On plonge une de ces fibres pendant $1/4$ — $1/2$ minute dans une solution aqueuse, qui contient $1/10$ % de ce sel d'argent, on la lave dans l'eau et on l'examine dans un mélange de :

Eau distillée	100 parties.
Glycérine	100 »
Acide formique.	1 »

La surface de la fibre prend une coloration brunâtre, la place de la plaque terminale reste seule nettement blanche.

On peut seulement se faire une bonne idée de la variété d'aspect des fibres nerveuses par l'examen des différents organes. A cause de l'analogie que les fibres sans moëlle ont avec les autres fibres de l'organisme, il faut observer la règle suivante : On ne doit jamais affirmer d'une fibre qu'elle

est nerveuse, si elle n'est pas vue unie avec une fibre nerveuse à double contour, avec un petit tronc nerveux entier ou avec une cellule ganglionnaire.

On voit le mieux les *cellules nerveuses*, à l'état frais, sur le ganglion de Gasser de la grenouille. On le trouve en enlevant la voûte du crâne et tout le cerveau, ou en le tirant de côté. Justement à l'union des centres des deux membranes du tympan, on voit, alors des deux côtés une place blanche, oblongue se dirigeant de la partie antérieure et supérieure à la partie postérieure et inférieure vers les parties latérales de la cavité crânienne. Elle est formée par une membrane, qui surplombe en la fermant complètement une cavité du crâne. Celle-ci est remplie d'un liquide, dans lequel sont suspendus d'innombrables cristaux de chaux, où se trouve aussi le ganglion de Gasser. Si l'on déchire la membrane, et que le liquide laiteux sur lequel on souffle, se soit un peu écoulé, le ganglion se montre bientôt gros comme une demi-tête d'épingle, reconnaissable à sa couleur jaune. Il est solidement fixé par les nerfs résistants, et on doit le séparer soigneusement avec des ciseaux.

Le ganglion est dissocié à la manière ordinaire; on évitera de le froisser avec le couvre-objet. Les cellules contiennent en grand nombre des gouttes de pigment jaune. Dans un examen plus attentif, le noyau apparaît, dans les cellules isolées, comme une tâche claire, nettement circulaire, bien limitée, (c'est-à-dire qu'il ne s'y trouve pas les nombreuses granulations qui sont dans le reste de la cellule); dans son intérieur se montre encore le plus distinctement le nucléole.

Les ganglions spinaux de la grenouille montrent aussi des cellules ganglionnaires analogues, distinctes et volumineuses; cependant elles ont toutes la particularité de ne laisser constater que rarement leur union avec les fibres nerveuses. Les ganglions spinaux de certains poissons, par exemple du *Lota vulgaris*, peuvent être recommandés comme propres à montrer les cellules ganglionnaires bipolaires. Il en est de même du ganglion de Gasser du brochet.

Pour l'étude des cellules ganglionnaires des mammifères, on choisira les ganglions spinaux d'animaux qui ne soient pas trop jeunes. Ils sont placés pendant 40 heures dans le liquide de Müller; on en fait alors des coupes épaisses, on les colore, puis on les dissocie.

Les cellules des ganglions du sympathique, qui ont une structure particulière, peuvent être examinées de la même manière à l'état frais; mais il est possible aussi de les couper et de les traiter, comme il sera indiqué plus tard pour les organes nerveux centraux.

On voit le mieux les fibres en spirale d'Arnold sur les cellules du sympathique de la grenouille, en traitant de la manière suivante. Le ganglion est macéré pendant 12-24 heures dans de l'acide nitrique dilué (0,01-0,02 %), ensuite chauffé à 50°. Après ce traitement, le tissu conjonctif s'est dissout et les cellules se séparent facilement. On y voit les fibres en spirale.

Tissu conjonctif.

Pour voir les fibrilles de tissu conjonctif, on placera un petit morceau de tendon frais dans de l'eau concentrée de baryte ou de chaux, et on l'y laissera 2—3 jours. Il faut fermer hermétiquement le vase, parce que, dans le cas contraire, il se forme tellement de carbonate que ses grumeaux troublent l'image microscopique. Après le temps voulu, on lave avec de l'eau un petit morceau de la préparation, que l'on dissocie sur le porté-objet.

Les fibrilles se séparent alors facilement, parce que la substance intermédiaire a été dissoute dans l'alcali. On obtient aussi une bonne séparation des fibrilles, en traitant le tissu conjonctif par l'hypermanganate de potasse seul ou mélangé avec l'alun.

Les corpuscules de tissu conjonctif apparaissent nettement, si l'on fait gonfler un petit morceau du tissu avec de l'acide acétique ou tartrique. Les tissus de jeunes animaux ou d'embryons montrent beaucoup plus de ces corpuscules.

On obtient de très belles figures avec les fins tendons de la

queue de rats et de souris, et avec le tissu conjonctif, qui est devenu œdémateux par la ligature des veines correspondantes. On peut voir que les corpuscules de tissu conjonctif forment des plaques, qui sont placées en arcs de cercle autour des faisceaux de fibres.

Pour se rendre compte des différentes dispositions que prennent les fibres de tissu conjonctif dans les divers organes, on examinera préalablement encore (une description plus détaillée et plus exacte résulte d'elle-même, à l'examen des différents organes) les séreuses fraîches de mammifères et d'oiseaux avec du ClNa ou de la glycérine, (les membranes sont étendues sur le porte-objet) en outre les minces enveloppes de tissu conjonctif, qui unissent entre eux les différents muscles de la patte de grenouille. On voit facilement une de celles-ci, si l'on cherche à soulever le gastrocnémien de la cuisse de grenouille, dépouillée de sa peau. Si l'on ajoute de l'acide acétique, après avoir examiné les choses à l'état naturel, les corpuscules de tissu conjonctif, qui n'étaient pas d'abord bien nets, apparaissent avec leur distribution dans l'organe. Enfin il y a les tendons.

Ceux des grands animaux ou de l'homme sont séchés à l'air, et coupés ensuite avec le scalpel longitudinalement et transversalement. La coupe est faite avec l'eau, et l'examen se fait dans l'eau ou la glycérine.

Toutes ces préparations peuvent être conservées dans la glycérine ou dans le d'Ammoniac, après un traitement préalable approprié. (1)

(1) Nous mentionnerons ici un autre liquide de conservation, que l'on emploiera, si l'on veut éviter le traitement par l'alcool, peut-être à cause du ratatinement, et si les objets sont ou trop transparents dans la glycérine ou ne tiennent pas. Il est donné par Farrant et consiste en parties égales de gomme arabique, glycérine et une solution aqueuse concentrée d'acide arsénieux. La fermeture a lieu au moyen d'une bordure d'asphalte comme pour la glycérine.

Pour mieux comprendre l'importance des éléments de tissu conjonctif et leurs rapports entre eux, il est à recommander fortement d'examiner sur l'embryon les stades de développement des fibrilles issues des cellules de tissu conjonctif. Ce qui convient le mieux à cet effet, est la peau ou les tendons d'embryons, qui sont traités et examinés, comme il a été détaillé plus haut, à l'occasion des muscles embryonnaires.

Fibres élastiques.

Elles ont la propriété de ne pas être attaquées par l'acide acétique, l'acide tartique, etc.

On l'utilise souvent pour se convaincre, si l'on a à faire à du tissu conjonctif ou à des fibres élastiques. Si l'on veut examiner les dernières, il suffit d'étendre sur le porte-objet une membrane séreuse ou du tissu conjonctif souscutané d'une région quelconque, de la traiter par l'acide acétique et alors, si cela était nécessaire, de la rendre transparente par la glycérine.

Toutes les fibres de tissu conjonctif sont gonflées et deviennent transparentes, de sorte qu'on ne voit que les fibres élastiques. De cette manière, on s'assure le mieux de leur parcours particulier, de leurs fréquentes divisions, etc. Les fibres élastiques résistent à la plupart des moyens de coloration, de sorte que si elles ont l'épaisseur suffisante, elles tranchent par exemple sur le tissu conjonctif rouge par leur aspect blanc-jaunâtre brillant, dans une préparation colorée par le carmin. Cependant elles se colorent en brun-jaune par l'acide osmique, et en bleu magnifique par le bleu d'aniline dissout dans l'eau. On peut employer la dernière propriété pour une double coloration, en ce sens qu'une coupe colorée d'abord avec le carmin, puis avec du bleu d'aniline très dilué, montre les cellules, c'est-à-dire le tissu conjonctif, les noyaux etc. rouges et les fibres élastiques bleues.

De très fortes fibres de cette espèce composent le ligament de la nuque des ruminants, du cheval, etc. On peut le sécher et le couper à la façon des tendons, comme il a été dit plus haut. Dans le mésentère (cochons d'Inde), on trouve un réseau

fibrillaire très fin et très gracieux, si on l'étend sur le porte-objet et qu'on le traite par l'acide acétique.

Graisse.

Elle est examinée, à l'état frais, dans du ClNa. On apprend à connaître son fort pouvoir de réfraction, qu'on ne peut presque confondre avec rien.

Plus est réfringent le liquide dans lequel on examine ce tissu, plus complètement disparaît naturellement son aspect brillant particulier.

Elle se dissout dans la térébenthine ; aussi les gouttes de graisse y perdent-elles leur brillant de même que dans la résine d'Amarr ; on peut alors d'autant mieux étudier la texture particulière de ces cellules.

Avec le carmin (voyez plus bas), les noyaux se colorent très bien, et sur les gouttes de graisse en apparence nues, il est possible de voir ressemblant à de petits croissants, les noyaux des cellules, qui renferment essentiellement les gouttes de graisse dans leur intérieur.

On examinera en outre des cellules de graisse d'animaux ayant faim ou se trouvant dans le sommeil hivernal, par exemple, des masses graisseuses de la cavité du ventre de grenouilles conservées pendant l'hiver ; ce qui est surtout à recommander, même pour l'examen ordinaire.

Épithéliums.

Avec le dos d'un couteau, on peut racler en masse sur la langue des cellules pavimenteuses d'épithélium.

L'épithélium pavimenteux stratifié frais de la cornée de la grenouille, que l'on enlève et que l'on place sous le microscope dans de l'humeur aqueuse, est examiné au niveau d'un pli. Sur la face postérieure de la cornée, l'épithélium de la membrane

de Descemet vu de face, peut servir comme exemple d'épithélium empavé non stratifié. On peut obtenir des cellules cylindriques en raclant légèrement la muqueuse de l'intestin grêle. On observe le plus facilement les cellules à cils vibratiles vivantes, en portant le péricarde entier de la grenouille sous le microscope, ou en raclant avec une aiguille à cataracte l'épithélium du voile du palais de la grenouille et en le déposant sur le porte-objet, naturellement avec l'addition d'un liquide indifférent. Dans ce cas les cellules deviennent ordinairement un peu rondes par le gonflement.

On peut isoler les cellules épithéliales par une macération dans une solution d'acide chromique à 0.05 %, en outre dans une solution de sel marin à 10 % etc. On peut aussi les colorer avec de l'argent, puis les isoler dans une solution de nitrate de soude à 10 %.

On obtient le mieux les cellules à cils vibratiles, qui s'agitent avec leurs longs petits poils, à la manière d'un fouet, en séparant avec précaution du cartilage la muqueuse nasale de la grenouille, et en la portant sous le microscope, de façon qu'un pli se présente à l'observation. On ne voit alors que le jeu des cils, non les cellules séparées. Pour les voir, on doit les faire macérer dans l'acide osmique (voir organe de l'odorat).

Si l'on promène sur une telle surface le tranchant d'un couteau, on réussit souvent à couper les cellules à cils vibratiles, de façon que la moitié supérieure, qui a les cils, est détachée. Ceux-ci continuent à s'agiter.

Les *endothéliums* sont des cellules épithéliales pavimenteuses très minces, qui sont difficiles à voir à cause de leur peu d'épaisseur. Si l'on étend bien à plat un mésentère, on reconnaît souvent les noyaux de ces cellules endothéliales. Des acides les font sûrement découvrir. Chez le cochon d'Inde, ils sont particulièrement beaux. Ils se distinguent des autres noyaux par leurs distances régulières.

Ordinairement on doit employer des moyens plus actifs pour voir les limites des cellules. Le traitement par le nitrate d'argent rend ici d'excellents services. Un morceau de mésentère est placé, à l'état frais, dans une solution (1/100—1 0/0) du sel d'argent, et il y reste quelques minutes, jusqu'à ce qu'il devienne trouble par sa coloration blanchâtre. Alors on le porte dans de l'eau, qui contient une trace d'acide acétique, et il est placé, recouvert, dans un endroit clair, si possible à la lumière directe du soleil.

Lorsqu'il est coloré en brun, on l'examine dans la glycérine. Les limites des cellules se montrent comme des lignes noires bien tranchées (mieux

des filaments, car ce qui s'est coloré en noir, est constitué par des corps arrondis, qui fonctionnent comme des canaux pour conduire les liquides. (Voir les endothéliums des vaisseaux sanguins à cet article.)

III. EXAMEN DES ORGANES.

Chaque organe doit d'abord être examiné durci, pour que le commençant ait la représentation exacte de la structure et de l'enchaînement du tout, ensuite on dissociera la même préparation à l'état frais. Dans ce but, on réduit à un petit volume sur le porte-objet, à la manière ordinaire, un morceau convenable de l'organe, dans une goutte d'une solution de sel marin à 1 %.

Il faut faire attention, à ce moment, à la structure, de manière, s'il s'agit, par exemple, de l'estomac, que l'on sépare avec précaution d'abord la musculuse de la muqueuse, alors que l'on dissocie attentivement les glandes à pepsine avec des aiguilles, sans les écraser etc. Il faut éviter à tout prix de tirer en aveugle sur de telles préparations.

Peau.

S'il s'agit avant tout d'avoir une vue d'ensemble des couches de la peau et de la disposition des éléments, qui la composent, la méthode suivante se recommande :

Des morceaux de peau de différentes places du corps (cuir chevelu, ailes du nez, cuisse, petites lèvres, creux de l'aisselle) sont débarrassés avec un couteau et des ciseaux de la plus grande partie de leur graisse, (pour le creux de l'aisselle, il faut faire attention, parce qu'ici les grosses glandes sudoripares atteignent le pannicule adipeux) et sont ensuite placés dans du vinaigre bouillant, auquel on a ajouté quelques gouttes de créosote. Ils y restent une ou deux minutes, se contournent et se recoquillent un peu; alors on les étend avec des épingles sur un morceau de liège, et on les laisse sécher.

Lorsque les morceaux de peau sont complètement durs, ils peuvent être coupés de la même manière que les tendons, etc.

Le sens de ce traitement est de faire gonfler tout le tissu conjonctif par l'effet de l'acide acétique et de la chaleur, de sorte que les parties, qui y sont enfermées, les poils, les glandes sudoripares etc., ainsi que les couches de la peau apparaissent distinctement. L'addition de créosote produit une plus grande netteté de l'image.

Les coupes sont naturellement faites dans un plan perpendiculaire à la surface de la peau; en même temps la coupe doit avoir une telle direction que les follicules pileux qui s'enfoncent obliquement dans la peau soient rencontrés suivant leur longueur. On reconnaît facilement cette direction, en examinant macroscopiquement la préparation. Pour d'autres organes, il faut également s'orienter toujours macroscopiquement pour la direction à donner aux coupes.

C'est alors le fait de l'exercice et de l'attention de ne pas perdre cette dernière pendant la coupe. Ce qui est coupé avec le scalpel, est mouillé avec l'eau ou l'alcool.

Par cette méthode de traitement, les finesses de texture sont habituellement perdues.

La couche supérieure de l'épithélium est souvent enlevée, ou adhère sous forme de mottes aux préparations. Par contre, les couches de la peau et les éléments qui sont enfermés dans le chorion, deviennent d'autant plus distincts par la destruction de la structure fibrillaire, et sont par là plus saisissables pour le commençant.

Les préparations gagnent beaucoup par la coloration dans le carmin. L'utilité des colorations repose surtout sur ce fait, que des parties de tissus se présentant tout-à-fait de la même façon au microscope, de sorte qu'on ne peut pas du tout ou seulement très difficilement les distinguer l'une de l'autre, ont une réaction chimique différente à l'égard des moyens de coloration. De cette façon, elles s'imbibent différemment de la matière

colorante, de manière qu'on peut très bien les distinguer l'une de l'autre, suivant l'intensité de la coloration. Il en résulte que sur une coupe colorée, une beaucoup plus grande quantité de détails se présentent que sur celle qui ne l'est pas.

La coloration peut en outre servir à faciliter le diagnostic sur la nature du tissu qui apparaît, comme nous le verrons plus tard.

Nous avons ici d'abord à apprendre à connaître la coloration par le carmin.

La solution est préparée, en broyant du carmin du commerce dans un mortier, et en ajoutant de l'eau, jusqu'à ce qu'il y ait une solution de 0.2 à 0.4 ‰. Mais le carmin se dissout seulement, si l'on ajoute de l'eau ammoniacale, que l'on verse goutte par goutte; à la coloration, on observe quand la solution complète est produite. Le carmin perd notamment, s'il est entré vraiment en solution, sa couleur de feu et devient davantage rouge cerise. Quand on en est là, on filtre, et la solution restera à l'air aussi longtemps qu'elle ne sente plus fort l'ammoniaque; l'odeur peut être presque complètement disparue.

Il s'agit d'avoir dans la solution le moins possible d'ammoniaque, parce qu'il altère beaucoup les tissus animaux. Il transforme les corps albumineux en albuminates alcalins, qui sont solubles dans les liquides alcalins.

Il en résulte qu'un carmin trop alcalin peut dissoudre tout-à-fait les coupes. Il ne faut donc mettre dans le liquide que l'ammoniaque suffisant pour que le carmin ne se précipite pas. (Ceci arrive-t-il, ce qui se voit souvent, si l'on conserve trop longtemps la solution, il suffit d'ajouter quelques gouttes d'eau ammoniacale.)

On peut encore à volonté diluer suivant l'usage la solution ainsi obtenue. Si la solution ne devait pas bien colorer, comme cela arrive pour les préparations durcies dans l'acide chromique, on ajoutera de l'alcool. La quantité varie suivant les préparations, mais en tous cas le volume de l'alcool ne peut pas

dépasser celui de la forte solution de carmin. Si de cette manière, la coloration était encore incomplète, on suivrait la méthode d'Obersteiner, quand on a à faire à des préparations sortant de l'acide chrômique. (Voir article moëlle épinière, p. 76.)

Beaucoup emploient la solution de carmin indiquée par Beale.

Carmin	1 gr.
Fort liquide ammoniacal.	3 »
Bonne glycérine	96 »
Eau distillée.	96 »
Alcool.	24 »

On peut aussi dissoudre du carmin dans 2 parties d'eau et 1 partie d'acide chlorhydrique, de même dans l'acide acétique, filtrer, puis, suivant le besoin, diluer encore davantage à volonté. Ce carmin acide différencie moins bien que l'alcalin.

Quand on a fait les coupes et, si l'on a employé l'alcool, qu'on les a lavées dans l'eau, on les place dans un verre de montre avec du carmin. On ne peut dire combien de temps elles doivent y rester, puisque les même organes, en apparence traités de la même manière, montrent sous ce rapport la plus grande différence.

Certaines préparations se colorent en peu de minutes, d'autres pas encore en plusieurs jours. On peut en général dire quels organes se colorent plus vite ou plus lentement ; cependant il y a encore des grandes variations, que les indications seraient sans utilité. Aussi la force de la solution à employer ne peut-elle être indiquée. Habituellement on la choisira, de façon qu'un verre de montre ordinaire rempli laisse à peine reconnaître dans son milieu à travers la couche de carmin les caractères d'un papier imprimé, sur lequel il repose.

De temps en temps on enlèvera une coupe, et on la lavera dans un verre de montre, qui est rempli d'eau. L'intensité de la coloration que la coupe a prise, et dont on doit se contenter,

est différente suivant les organes. Les coupes de la peau ont-elles pris une coloration rouge foncée, elles sont mises dans l'eau. Cette opération a un double but, d'abord de précipiter en très fines particules et ainsi de fixer le carmin, imbibant la coupe et insoluble dans l'eau, qui la pénètre, ensuite d'emporter le carmin, qui est adhérent à la surface et se dépose en grumeaux muqueux. Quand les coupes sont restées dans l'eau 5-10 minutes, et qu'elles ont été déplacées plusieurs fois avec l'aiguille, elles peuvent être enlevées et examinées aussitôt dans la glycérine. Elles peuvent aussi suivre la marche déjà décrite, par l'alcool dans la térébenthine, être examinées dans celle-ci et de là, si on veut les conserver, être portées dans le dammar. Quand on examine des préparations dans la térébenthine, il faut faire attention à ce fait, que les vapeurs de térébenthine attaquent le baume de Canada, avec lequel les lentilles de l'objectif sont unies. Il ne faut donc jamais laisser s'écouler la térébenthine de la lamelle de verre, sur la partie du porte-objet qui n'est pas couverte.

D'après cela, toute la marche du traitement est la suivante pour ces coupes et celles qui sont analogues :

(Alcool, si l'on fait les coupes avec celui-ci.)

Eau.

Carmin.

Eau (les coupes sont bien lavées).

Glycérine. Alcool (les coupes y restent longtemps).

Térébenthine.

Résine d'Amarr.

L'alcool employé pour enlever l'eau est de préférence absolu⁽¹⁾

(1) On prépare soi-même à bon compte et en petit l'alcool absolu avec de l'alcool ordinaire du commerce, en lui enlevant l'eau par le sulfate de cuivre. Dans ce but, le sulfate de cuivre est privé d'eau par la calcination ; la poudre blanche, qui est ainsi produite, est mise dans une bouteille, où l'on verse l'alcool ordinaire. Après quelques jours ; pendant lesquels on a agité le flacon, l'alcool est privé de son eau. On peut de nouveau employer ce sulfate de cuivre, jusqu'à ce qu'il ait repris sa coloration bleue. Alors il doit de nouveau être calciné.

puisque dans le cas contraire, souvent encore après quelques jours, l'eau se remarque dans les coupes, et nuit à la préparation.

Il faut encore ici remarquer que l'enlèvement de l'eau par l'alcool est un moment important pour la réussite des préparations, de sorte que l'on doit donc les laisser séjourner dans ce liquide assez longtemps, souvent plusieurs heures ou un jour entier. Il n'est pas à craindre que le transport porte préjudice à la beauté des coupes ; aussi peut-on arriver plus vite au but, en enlevant les coupes de l'alcool et en les déposant dans une nouvelle portion. Dans ce cas, l'alcool employé la première fois peut être modérément faible, mais la deuxième, il doit être absolu.

On peut souvent, et si c'est possible, on doit le faire pour épargner les coupes, verser le liquide, qui les contient, au lieu de les enlever elles-mêmes. Surtout si les coupes sont dans l'alcool, cela se fait facilement. Ce traitement des coupes, d'après lequel elles sont finalement examinées dans la térébenthine ou la résine d'Ammar, est celui qu'il faut employer en général, et c'est le traitement à suivre partout, où il n'est rien dit de plus.

On obtient encore de beaucoup plus belles et plus apparentes préparations par la *double coloration* avec le carmin et l'acide picrique. Cette double coloration repose sur ce fait, qu'en se servant modérément du carmin les mêmes parties de tissus s'en imbibent, qui le sont peu par l'acide picrique employé dans les mêmes conditions et vice-versa.

De cette manière, on obtient des préparations où tous les noyaux des cellules et le tissu conjonctif sont colorés en rouge par le carmin, tandis que les corps des cellules, surtout les cellules épithéliales, plus tout ce qui est muscle sont colorés en jaune par l'acide picrique. Pour les muscles inorganiques, dont les trainées sont souvent très difficiles à distinguer de celles de tissu conjonctif, l'acide picrique sert directement comme moyen de diagnostic.

La méthode de coloration est la suivante : D'abord les coupes sont colorées dans du carmin excessivement faible, puis elles sont privées d'eau dans l'alcool. Cette deuxième opération n'est pas nécessaire, si l'on veut examiner plus tard les coupes dans la glycérine. La solution d'acide picrique est préparée chaque fois extemporanément, en dissolvant par l'alcool absolu quelques petits grains de cet acide dans un verre de montre. Dans cette

solution, qui doit toujours être plus claire que du vin, sont placées les coupes privées d'eau, mais elles n'y restent que quelques minutes.

Il suffit souvent d'y plonger les coupes ; elles ne doivent jamais rester assez longtemps pour apparaître troubles et opaques. (A-t-on trop fort coloré, on peut enlever au moyen de l'alcool une partie de l'acide picrique.) Ensuite elles sont lavées très rapidement dans l'alcool et portées dans la térébenthine, ou rendues transparentes et examinées dans un mélange de térébenthine et de créosote, (1:4) ou lavées dans l'eau et examinées dans la glycérine.

Toute la marche de la double coloration est en conséquence la suivante :

(Coupe avec l'alcool.)

Eau.

Carmin (faible).

Eau.

Alcool (longtemps, dans le cas de traitement consécutif par la térébenthine).

Acide picrique (faible).

Eau Alcool (avec un peu d'acide picrique).

Térébenthine avec créosote.

Glycérine. Térébenthine.

Résine d'Ammar.

Résine d'Ammar.

On peut aussi colorer avec une solution aqueuse d'acide picrique, et cela avec un aussi bon résultat ou du moins approchant. Dans ce cas, le procédé est encore plus simple, et consiste, comme c'est facile à voir, dans le traitement suivant :

(Coupe avec alcool) .

Eau.

Carmin (faible).

Eau.

Acide picrique (faible).

Eau. Alcool (longtemps).

Térébenthine avec créosote.
d'Ammar.

Glycérine. Térébenthine.
d'Ammar.

Il faut faire attention qu'après la coloration dans l'acide picrique, on ne l'enlève pas par le lavage dans l'eau, l'alcool ou la térébenthine, où il est soluble.

Si les préparations sont réussies, les muscles érecteurs des poils doivent être colorés en un beau jaune, mais les noyaux de leurs fibres musculaires doivent être d'un rouge clair ; le même effet se montrera sur les cellules épithéliales, etc., comme il ressort de ce qui a été dit plus haut.

L'acide picrique employé seul, comme moyen de coloration, donne également de belles images. Il est à recommander, quand on ne veut pas employer le carmin pour des raisons quelconques, par exemple, parce que l'organe, dont il s'agit, est injecté avec cette substance.

Un moyen de coloration à employer avec succès dans la plupart des cas, est le micro-carmin. Il est obtenu de la manière suivante. Dans une solution aqueuse saturée d'acide picrique, on verse une solution de carmin fortement ammoniacale, on réduit jusqu'au $\frac{1}{5}$ du volume au bain-marie, on laisse refroidir, on filtre le carmin précipité, on chauffe de nouveau jusqu'à ce que le micro-carmin se dépose en poudre cristalline de la couleur du rouge-ocre. On colore habituellement avec une solution à 1 % de cette dernière, essentiellement d'après la même méthode que pour le carmin.

Pour en revenir à nos coupes de la peau, il faut mentionner que l'on devra chercher dans la peau de l'aisselle les glandes sudoripares, dans les ailes du nez, les glandes sébacées, dans le cuir chevelu, les follicules pileux et leurs muscles, dans les petites lèvres, les glandes sébacées, etc.

On peut faire une préparation macroscopique des corpuscules de Pacini avec la main de l'homme et faire ensuite des coupes ; dans celles-ci on peut les trouver. C'est facile sur la peau de la plante du pied et de la paume de la main d'enfants nouveau-nés : seulement on doit couper en même temps tout le pannicule adipeux, à cause de la profonde situation des corpuscules.

Ils sont les plus beaux dans le mésentère de chat, dans lequel on les voit à l'œil nu sans autre préparation. On les enlève avec le morceau de mésentère qui y adhère et que l'on étend sur le porte-objet dans du ClNa ou de la glycérine.

On peut voir facilement les corpuscules de Meissner en faisant des coupes de la pulpe des doigts, si l'on enlève la peau à des cadavres maigres d'individus non trop âgés, ayant de fines mains. Sur les doigts des enfants nouveau-nés, on ne trouve jamais ces corpuscules en faisant des coupes ordinaires, pour autant que mon expérience me l'apprend.

On se représente encore plus facilement et mieux ces corpuscules du tact, à l'état frais. Dans ce but, on fait avec des ciseaux ou un rasoir une coupe de la pulpe d'un doigt frais, naturelle-

ment dans une direction perpendiculaire à la surface de la peau, et aussi mince que cela est possible dans ces conditions. On la dépose sur le porte-objet, et on cherche avec deux aiguilles à séparer l'épiderme de la coupe, ce qui réussit facilement. Les papilles flottent alors librement dans le liquide; on y reconnaîtra aussitôt les corpuscules du tact. Il y a aussi des corpuscules du tact modifiés, mais très beaux, dans la langue du canard et de l'oie, immédiatement sous l'épithélium. On peut aussi isoler les corpuscules du tact. Le mieux est d'employer la coloration par l'or pour les coupes de la peau fraîche, et de les faire macérer dans l'acide chlorhydrique et la glycérine (voir reins).

Comme il a été dit, les finesses de texture de la peau sont détruites par cette méthode de traitement. On les voit mieux, si on durcit la peau dans l'alcool, pour y faire des coupes. Une autre méthode de durcissement, dont il peut être parlé ici, consiste dans la congélation des préparations. De la neige avec du sel marin ou un autre mélange quelconque produisant un froid suffisant est employée dans ce but. Le rasoir qui sert à couper, doit aussi être froid.

Un excellent moyen de durcissement à employer dans la plupart des cas, comme ici, est l'acide chromique. On fera une solution aqueuse d'environ 0,25 %. Les différents objets exigent différents degrés de concentration; le nombre indiqué correspond à la moyenne. Avec les préparations injectées par le bleu de Prusse, il faut éviter l'acide chromique.

Pour bien durcir, il faut également ici prendre la quantité suffisante du moyen de durcissement, environ le dixième du volume de la préparation, ou bien changer assez souvent le liquide. L'économie exige de durcir de petits morceaux, qui se laissent aussi plus vite couper que les gros. Comme d'un autre côté ces petits morceaux se laissent mal saisir, pour faire les coupes, on a pensé aux moyens de remédier à cet inconvénient. Nous en connaissons déjà un; c'est la méthode qui con-

siste à enserrer, à enclaver la préparation. Il ne faut pas l'employer pour de fins organes, à cause des froissements qu'on leur fait subir. On se facilite donc la besogne par :

Inclusions. La préparation est mise dans un liquide qui se fige, et forme alors avec ce dernier une masse compacte, propre à la coupe. Les conditions d'une bonne inclusion sont : que la masse employée ait autant que possible une consistance équivalente à celle de la préparation, que celle-ci adhère fortement aux parois de cette masse, et que cette dernière ou la méthode employée ne nuise pas à la préparation.

Les masses à inclusion peuvent être divisées en deux groupes, dont l'un est destiné au traitement par la térébenthine et l'autre au traitement des préparations, que l'on veut tenir éloignées de l'alcool et de la térébenthine (certains organes délicats se racornissent trop par l'alcool). Les plus importantes du premier groupe sont :

Paraffine. Supposons qu'il s'agisse d'inclure un petit morceau de peau, gros comme un pois. On durcit ce dernier dans l'alcool. On fabrique un baquet de papier solide, dont la base est de 4-8 centimètres carrés, et dont les parois sont hautes d'environ 2 centimètres. La base doit être oblongue.

Dans ce baquet, on verse au moyen d'une pipette de la paraffine un peu liquéfiée ; cette dernière ne doit pas être plus chaude qu'il n'est nécessaire pour la faire fondre. Lorsque le fond du baquet est couvert de paraffine dans une hauteur de 2-5 millimètres, on la laisse provisoirement refroidir ; on agit ainsi, pour que la préparation plus tard ne puisse pas tomber au fond, dans de la paraffine liquide.

Entretiens la préparation est portée de l'alcool dans la térébenthine, où elle reste quelques minutes. Ceci est fait pour que la préparation adhère entièrement plus tard à la paraffine, qui est soluble dans la térébenthine, mais non dans l'alcool. (Si l'on dessèche bien à la surface la préparation sur du papier à filtrer, on peut, dans beaucoup de cas, s'épargner le transport

dans la térébenthine.) De la térébenthine on porte la préparation sur du papier buvard, où elle se dessèche par un mouvement doux qu'on lui imprime. Alors elle arrive sur la paraffine maintenant refroidie, non dans le milieu, mais comme elle doit servir de poignée, près d'une paroi peu élevée. On dirige la préparation, de telle façon qu'elle soit bien placée pour la coupe.

Ce serait ici la situation dans laquelle un plan perpendiculaire à la surface de la peau serait parallèle à la paroi du vase d'inclusion, dans le voisinage de laquelle se trouve la préparation. Les coupes doivent en effet plus tard, être faites parallèlement à cette paroi par la masse à inclusion.

Ensuite la paraffine est versée avec précaution, jusqu'à ce qu'elle recouvre de plusieurs millimètres la préparation.

On doit faire attention s'il se forme des bulles qui adhèrent à la préparation. Si c'est le cas, il faut les éloigner, et la préparation sera de nouveau mise dans son ancienne situation.

Après environ une heure, la paraffine est complètement durcie ; on peut facilement détacher le papier. Si l'on tient le tout contre la lumière, on peut s'orienter sur la situation de la préparation à l'intérieur de la masse, et ensuite couper. Quand la préparation est mise à nu du côté de la coupe, on enlève (fig. 5) assez de paraffine, pour qu'elle se présente vue d'en haut comme dans une pyramide tronquée. Si elle était trop pointue, on courrait le danger de briser la préparation. On coupe avec la térébenthine — parce que celle-ci ramollit et dissout les couches les plus superficielles de la paraffine — ou, ce qui est

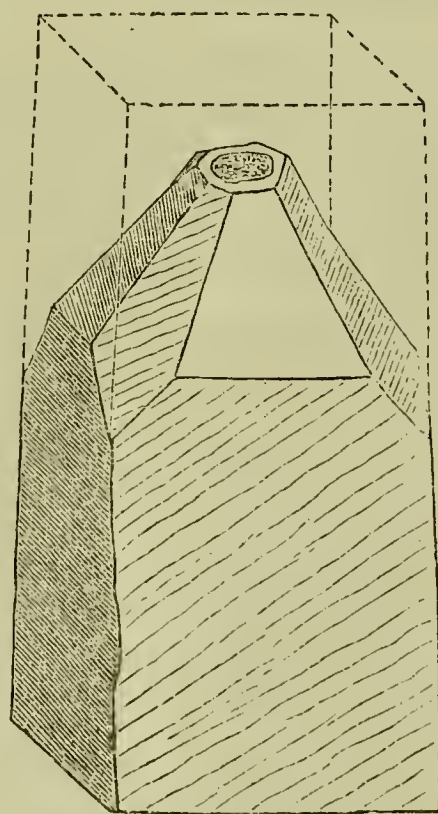


Fig. 5.

moins efficace, mais plus commode, avec l'alcool. Dans chaque cas, la surface de section doit toujours être mouillée.

Le traitement de ces coupes est celui employé ordinairement. Seulement on doit les laisser dans la térébenthine, jusqu'à ce que toute la paraffine soit véritablement enlevée.

Si l'intérieur de la préparation en est très imprégné, les coupes se colorent mal; on doit alors l'extraire dans la térébenthine, avant de les porter par l'alcool et l'eau dans le carmin et ainsi de suite. Dans les cas ordinaires, il n'est cependant pas nuisible de porter immédiatement par l'eau dans le carmin, des coupes qui ont été faites avec l'alcool.

Comme vase à inclusion, on peut se servir, en dehors de celui qui a été indiqué, de papier plié, ce qui est commode.

Il est pratique de courber une bande de fer blanc aux quatre pavois du vase, et de mettre au fond une plaque de liège; les parties peuvent alors être mises ensemble, quand on s'en sert, et la masse refroidie peut être enlevée en dépliant la bande de fer blanc.

On peut aussi inclure sur une plaque de verre, par exemple un porte-objet, des préparations toutes petites et délicates, telles que des parties d'embryon, en étendant sur le verre de la térébenthine — pour que la masse puisse plus tard facilement glisser. — Ensuite, on laisse se figer une couche de la masse à inclusion, puis on y place la préparation et la masse couche par couche, jusqu'à ce que la préparation soit assez couverte.

La paraffine est le moyen d'inclusion le meilleur marché; il est aussi excellent dans beaucoup de cas, mais il a quelques grands désavantages.

On ne peut pas modifier sa consistance suivant celle des préparations; en hiver, elle est habituellement trop dure, et dans les journées chaudes de l'été, on ne peut l'employer, à cause de sa mollesse.

On peut remédier à ces inconvénients par des mélanges, que l'on fera à volonté plus durs ou plus mous. Le meilleur consiste en :

Cire et huile. On prend habituellement de la cire (fine et blanche) et de l'huile en parties égales. La méthode est la même que pour la paraffine et la

Cire, stéarine et huile. Comme il a été dit, dans toutes ces masses, il faut choisir les proportions d'après la préparation et la saison.

Si l'on a des préparations, qui sont plissées de façon que la masse ne pénètre que très difficilement dans leurs replis (paupières avec une partie

du bulbe, limaçons etc.), et s'il s'y trouve des bulles d'air, à cause de la méthode, on peut la modifier de la manière suivante. Avant l'inclusion, on place les préparations non pas dans la térébenthine; mais après qu'elles ont été séchées superficiellement, elles seront transportées de l'alcool aussitôt dans un verre de montre de moyenne grandeur et peu profond, dans lequel se trouve la masse à inclusion liquide. Le tout est placé sous le récipient d'une machine pneumatique, dans laquelle on fait le vide aussi vite que possible.

La conséquence est que l'alcool et l'air, qui étaient encore contenus dans la préparation, s'échappent sous une cuisson violente, et que la masse pénètre dans les joints de la préparation, si on laisse de nouveau arriver l'air. Il faut pomper assez vite, pour que la cuisson ait cessé et que l'air puisse pénétrer de nouveau, avant que la masse commence à se figer. La préparation est habituellement poussée à la surface, mais elle retombe finalement au fond. En cas de nécessité, on peut la fixer dans sa situation au moyen d'un fil. La masse figée est coupée avec la préparation hors du verre de montre.

Le deuxième groupe de masses à inclusion est employé, quand on veut éviter le traitement et le durcissement avec l'alcool. Les plus importantes sont:

Le savon rude, *dit transparent*, est dissout par la chaleur avec $1/3-1/2$ de son volume d'esprit de vin; dans cette solution se fait l'inclusion. Par le refroidissement la masse se durcit, et est bonne pour la coupe après 1-2 jours.

La *gomme arabique*. La gomme est, comme on sait, très facilement soluble dans l'eau et non dans l'alcool. On utilise cette propriété en faisant l'inclusion dans la solution et en faisant durcir par l'alcool. Un cornet de papier est rempli d'une solution de gomme très épaisse — plus que du miel. — Il faut éviter avec soin chaque bulle d'air dans la solution. La préparation y est plongée, après avoir été au préalable déjà imbibée d'une faible solution de gomme. Comme on le comprend, aucun alcool ou un autre liquide ne se mêlant pas avec la solution de gomme, ne peut être contenu dans la préparation. La préparation touche-t-elle au fond, on peut la retenir au moyen d'un fil dans la situation voulue. Tout le cornet est introduit ou suspendu dans l'alcool, où il reste un ou deux jours. L'alcool précipite la gomme dans une consistance propre à la coupe.

Lorsque ceci est fait, le cornet de papier peut être enlevé, et la préparation coupée. Cette dernière opération se fait avec de l'eau.

Cette méthode exige beaucoup de soins, autrement on a des bulles d'air dans la masse, ou la préparation n'adhère pas bien. Elle est à recommander pour des éléments qui contiennent beaucoup de tissu conjonctif. Une méthode d'inclusion à préférer dans certains cas est décrite page 88.

D'autres masses à inclusion sont la gomme ou la colle avec la glycérine.

On peut couper de très petites préparations, si elles étaient au préalable dans l'eau, lorsqu'on les laisse sécher sur de la moëlle de sureau ou sur du liège sans défaut, dans une goutte de gomme, à laquelle on ajoute une trace de glycérine. La gomme n'est pas tout-à-fait dure par l'addition de glycérine, mais elle peut être coupée, de sorte qu'on peut faire la coupe à travers la gomme, la préparation et la moëlle de sureau. On prend facilement trop de glycérine; pour une once de gomme muqueuse épaisse, deux ou trois gouttes de glycérine suffisent.

Par la méthode qui vient d'être donnée, il est possible d'étudier complètement les détails de texture de la peau; seulement il reste un point: c'est l'étude des vaisseaux sanguins. On étudie, comme on sait, le cours des vaisseaux sur des préparations d'injections; c'est pourquoi nous avons à nous en occuper maintenant.

Masses à injection et injection. La meilleure et la plus commode masse à injection est un mélange de bleu de Prusse et de colle. Le premier, pour ce que nous voulons faire, doit être préparé d'une manière particulière. Voici comment :

On prépare deux solutions, l'une consiste en 217 grammes de ferrocyanure de potassium pour un litre d'eau, la deuxième en une partie en poids de chlorure de fer solide du commerce pour 10 parties d'eau.

Les deux solutions sont mesurées à volumes égaux, et à chacune d'elles on ajoute le double de son volume d'une solution concentrée (froide) de sulfate de soude. Alors les deux liquides sont mélangés, en versant la solution de chlorure de fer dans la solution de ferrocyanure de potassium et en agitant sans cesse. Le précipité de bleu de Prusse, qui s'est développé, est filtré avec une bourse de toile; et l'on versera toujours à nouveau jusqu'à ce que le liquide filtré soit encore coloré en bleu. Après plusieurs jours, les trous de la bourse se sont bouchés à un tel point, que ce qui est filtré ne contient plus de bleu. Le résidu est alors lavé avec de l'eau aussi longtemps que le liquide qui s'écoule, commence à se colorer en bleu, puis il est recueilli et séché. Pour cela on l'exprime d'abord le mieux possible dans la presse, on brise la masse obtenue en petits morceaux et on la laisse sécher à l'air. Quand ceci est fait, le bleu de Prusse peut être gardé aussi longtemps qu'on veut. On additionne d'eau une por-

tion de ce bleu de Prusse dit soluble. Après quelques jours, elle s'est prise en une masse épaisse dont une partie est diluée pour chaque usage, et mélangée avec de la colle.

Celle-ci (la plus fine gélatine) est mêlée avec de l'eau, de façon qu'elle se trouve dans un rapport de poids environ comme 7 : 100.

Elle est découpée dans l'eau chaude, et on la laisse bouillir jusqu'à ce qu'elle se soit distribuée tout-à-fait uniformément. A cette solution de colle, on ajoute lentement un égal volume de solution de bleu de Prusse, en agitant toujours. La dernière solution doit être assez diluée et avoir à peu près la consistance du bon lait. L'addition du bleu de Prusse à la colle, de même que l'opération de maintenir chaude la masse, doivent avoir lieu sur le bain-marie. Il n'est pas possible d'indiquer une donnée quantitative exacte de la masse, parce qu'elle doit être très différente suivant les cas. Ce que nous disons maintenant, doit montrer tout-à-fait approximativement la composition de la masse qui sert habituellement.

Cette masse d'injection ne se maintient pas facilement plus longtemps qu'une semaine, au moins en été. La solution de bleu de Prusse seule se maintient plus longtemps.

C'est le motif pour lequel on prépare la solution de gomme toujours seulement peu de temps avant son emploi, et on la mélange avec la solution de bleu de Prusse. Ni la colle ni la masse d'injection ne doivent être chauffées directement sur la flamme ou y être tenues chaudes; elles doivent plutôt se trouver sur le bain-marie. La masse d'injection doit aussi être couverte pour éviter la formation d'une pellicule.

L'injection de cette masse avec la seringue ne se différencie en aucun point essentiel des injections des masses grossières.

Le tube est lié dans l'artère correspondante; alors la masse d'injection est aspirée dans la seringue, d'où l'air a été chassé, en la tenant avec l'ouverture vers le haut et en poussant avec précaution le piston. Le tube est alors rempli et l'injection se fait. On peut et on doit même injecter plus vite qu'on ne le fait ordinairement avec des masses grossières.

La partie à injecter doit être chauffée au préalable; mais si on a mélangé la masse avec relativement peu de colle (cependant elle peut encore se prendre en gélatine à la température de la chambre), on peut s'épargner cette peine. On injecte aussi longtemps que la masse s'écoule par les veines correspondantes ou que la préparation soit fortement bleue.

Immédiatement après l'injection, la préparation arrive dans de l'esprit de vin dilué. Ceci a lieu, pour que la colle de la masse d'injection se coagule vite et pour éviter de cette façon un écoulement ou un écrasement consécutif de la masse.

Après plusieurs heures ou après un jour, on enlève la préparation de l'esprit de vin et on coupe les parties, dont on a besoin pour un examen ultérieur. Elles sont durcies dans l'alcool fort ou dans un autre liquide de durcissement.

Elles sont le plus belles, si on les durcit dans l'alcool.

Qu'on ne s'effraie pas, si la coloration bleue de la masse à injection a disparu. Cela provient de ce que le bleu de Prusse est réduit; il y a transformation en un sel qui est incolore. De même si l'on ne place pas la

préparation dans l'alcool, mais si on la laisse reposer à l'air, la réduction a lieu.

Le traitement ultérieur des coupes produit l'oxydation et avec elle la réapparition de la couleur bleue. Il est encore à remarquer que quand l'injection ne se fait pas à une trop haute pression, on peut n'ajouter à la masse que si peu de colle qu'elle ne se prenne pas en gélatine à la température de la chambre. C'est important où l'on doit craindre les hautes températures.

Avant de passer au traitement des coupes injectées, nous pouvons encore décrire ici quelques masses et méthodes d'injection.

Masse de carmin. Elle consiste en colle, qui est préparée de la même manière qu'il a été dit plus haut pour la masse bleue et en carmin. On préparera une solution de carmin analogue à celle qu'on emploie pour colorer; elle peut seulement être un peu plus concentrée. Elle a une couleur rouge-cerise; on y ajoute goutte par goutte, en agitant, de l'acide acétique dilué, jusqu'à ce qu'elle change sa coloration en celle de rouge-feu. On reconnaît le mieux ce changement de couleur, si l'on fait l'opération dans un vase de porcelaine blanche, et si l'on agite toujours le liquide. Celui qui ne connaît pas encore la couleur de feu de ce carmin, fera bien de traiter d'abord une petite quantité avec l'acide acétique, pour reconnaître sûrement le changement de coloration. Il repose sur ce fait que le carmin d'abord dissout, est précipité à l'état pulvérulent qui convient pour faire les injections. Alors le carmin, comme il a été dit plus haut pour le bleu de Prusse, est versé dans la colle chaude, et tenu encore pendant 10—20 minutes, en agitant, au-dessus d'un bain-marie.

Jaune de chrome. Il est produit, à la manière ordinaire, par un mélange attentif d'une solution de chromate simple ou double de potasse avec l'acétate de plomb.

Le jaune de chrome ainsi produit est lavé et conservé sous l'alcool. Pour s'en servir, l'alcool est de nouveau versé sur le filtre, et la fine poudre est suspendue dans la colle. Les grains de jaune de chrome sont relativement gros, cependant cette masse passe encore par les capillaires.

Elle n'offre pour les cas ordinaires aucun avantage; il faut donc seulement s'en servir, quand les autres masses à injection ne peuvent être employées pour des raisons quelconques.

On emploie quelquefois *des masses à injection grossières* pour reconnaître sous le microscope quelles sont les petites artères et quelles sont les veines. On peut aussi alors employer des masses de colle colorées par le minium, ou le résidu du cinabre obtenu après un lavage répété.

Des masses autrement grossières rendent ce service. Comme elles ne passent pas par les capillaires, on voit que les vaisseaux qu'elles remplissent sont des artères, si l'injection a été faite dans une artère.

Les méthodes d'injection, qui présentent des avantages sur la seringue, sont celles dans lesquelles on peut rendre à volonté la pression forte ou faible, dans une mesure exacte, ou au moins se rendre compte de la pression employée.

L'appareil à injection de Hering consiste essentiellement en deux boules

de verre, qui sont en partie remplies de mercure et sont unies par un tube, de façon qu'en abaissant les boules, le métal peut couler de l'une dans l'autre. Tout le mercure est-il dans la boule *A*, si on lève à présent celle-ci sur *B*, il s'écoule vers *B* du mercure, jusqu'à ce que l'air qui y est enfermé, soit assez comprimé pour tenir équilibre à la pression mercurielle. Le degré de cette compression dépend naturellement de la différence de hauteur entre *A* et *B*. Elle peut être lue sur une échelle. Nous avons donc dans la boule *B* une quantité d'air, qui se trouve sous une pression que l'on varie à volonté et que l'on peut déterminer exactement. L'appréciation de cette pression pour l'injection, a lieu comme suit : On prépare un flacon, par le bouchon duquel passent deux tubes en verre, comme dans les bouteilles à injection. Dans cette bouteille est introduite la masse d'injection. L'un des tubes en verre plonge dans la masse, l'autre se termine au-dessus de son niveau. Le dernier est mis en communication par un tube en caoutchouc avec l'espace d'air de la boule *B*. De cette façon, la pression augmentée est communiquée à l'intérieur de notre bouteille, et la masse d'injection est poussée par l'autre tube avec une force correspondant à cette pression. A ce tube en verre est également fixé un tuyau en caoutchouc, qui porte une canule à l'extrémité supérieure. En voilà assez pour la compréhension de cet appareil. Comme canule, il faut employer des tubes en verre effilés, qui sont pourvus d'une petite olive. Pour opérer commodément, on adapte au-dessus de la canule au tube en caoutchouc, un robinet que l'on ouvre seulement, quand tout est prêt pour l'injection. Celle-ci doit seulement commencer, s'il ne s'écoule plus de mercure de la boule supérieure ; alors seulement il y a une pression constante.

Si l'écoulement du mercure ne cesse pas, la bouteille ou le tuyau en caoutchouc de l'appareil ne ferme pas hermétiquement. La bouteille avec la masse à injection se trouve dans de l'eau chaude.

Un appareil un peu moins commode mais plus simple, que l'on peut toujours improviser facilement, repose sur le même principe. Au lieu des deux boules, il y a deux bouteilles ; au lieu du mercure, de l'eau. Une bouteille est suspendue au plafond au moyen d'une roulette, et elle peut être tirée plus ou moins haut. L'eau s'en écoule par un tuyau en caoutchouc et un tube en verre, pour arriver jusqu'au fond de la deuxième bouteille, qui se trouve sur la table. Il arrive ainsi que l'air est maintenant condensé dans celle-ci, et la pression développée est transportée comme plus haut de la boule *B* sur la masse à injection. Si l'on a du mercure à sa disposition, on n'a pas besoin d'élever une des bouteilles jusqu'à cette hauteur. Il y a dans le commerce un appareil de ce genre (1), dans lequel ces deux bouteilles de mercure sont adaptées à un pied, qui permet d'en élever ou abaisser une par une vis avec manivelle. C'est la forme la plus commode des appareils d'injection, dans lesquels la pression peut être mesurée immédiatement et variée facilement.

(1) Mécanicien Schortmann à Leipzig.

Injection spontanée. On peut enfin chez la grenouille, la salamandre maculée et d'autres animaux résistants, utiliser la force de propulsion du cœur pour l'injection. C'est d'une grande importance, s'il s'agit de décider s'il y a extravasation ou non. Si l'on peut alors par l'injection spontanée montrer que le cœur est assez fort pour pousser la masse à cet endroit, il n'y a pas de doute qu'aussi le sang arrive normalement, par conséquent que la masse d'injection a rempli les voies normales du sang.

L'injection a lieu de cette façon. Le cœur d'une grenouille, par exemple, est mis à nu. Pour éviter les hémorrhagies, il faut faire attention aux veines qui sont à la face interne de la paroi du ventre; on coupera le sternum sur la ligne médiane. On peut alors soulever le cœur après avoir coupé le petit vaisseau qui va de derrière le péricarde au ventricule. Quand cela est fait et que le cœur est reporté vers le haut, on enlèvera avec précaution la partie du péricarde, qui tient encore à la veine-cave. On voit alors apparaître celle-ci comme un vaisseau gonflé, pulsatif, allant du foie au cœur.

On aspirera alors la masse à injection dans un tube en verre d'environ un pied de long, qui, à son extrémité inférieure, est allongé en forme de canule et est courbé sous un angle d'environ 45°. A l'extrémité supérieure, est fixé un petit morceau de tuyau en caoutchouc, que l'on pince avec les dents, pour empêcher l'écoulement de la masse. Quand on a fini ces préparatifs, on fait une fente dans la veine cave, et on y introduit l'extrémité du tube jusque dans l'atrium. Alors on laisse s'écouler un peu de liquide du tube; il arrive dans le ventricule et de là plus loin. Pendant la diastole, on le laisse de nouveau couler, et ainsi de suite d'une manière isochrone avec le battement du cœur, jusqu'à ce que l'organe soit paralysé. Malheureusement cela arrive habituellement déjà très tôt, de sorte que la masse à injection souvent ne pénètre pas dans la plus grande partie du réseau capillaire. Certains organes, par exemple les poumons, se remplissent très facilement.

Il faut faire attention que le sang puisse s'écouler par la fissure de la veine-cave. Il ne faut pas employer de masse à injection chaude dans cet essai; autrement le cœur meurt encore plus tôt. On aura donc recours à de l'eau tiède.

Chez les mammifères, on peut également exécuter une espèce d'injection spontanée, on y arrive en introduisant dans la veine jugulaire une solution de 3 parties de carmin, 4—5 parties d'eau ammoniacale forte et 50 parties d'eau, que l'on a bien filtrée. Dans la plupart des cas, la méthode ordinaire d'injection doit naturellement être préférée.

Pour revenir à la manière d'agir avec les coupes de nos préparations microscopiques, il a déjà été mentionné que celles qui sont injectées avec le bleu de Prusse, ont perdu en partie leur coloration par le traitement ultérieur. L'oxydation du bleu de Prusse réduit à lieu par l'action de la térébenthine de

Venise (1) ou de l'essence de girofle. La marche de tout le traitement serait donc :

(Coupe avec l'alcool.)

Eau.

Carmin.

Eau.

Alcool (longtemps).

Térébenthine.

Térébenthine de Venise ou essence de girofle.

Résine d'Ammar.

Il est plus commode de se servir de l'essence de girofle à cause de sa meilleure odeur et de sa moindre viscosité ; mais elle a le désavantage d'être plus chère et de rendre souvent les coupes trop transparentes. Les coupes ne restent dans ces moyens d'oxydation que très peu de temps ; on voit de suite apparaître la coloration bleue. Je mentionne expressément qu'en cas d'injection par le bleu de Prusse, pour colorer les coupes, il faut employer un carmin privé autant que possible d'ammoniaque. L'ammoniaque détruit le bleu de Prusse d'une façon durable. Pour le même motif, il faut choisir une forte solution de carmin, pour que la coloration ne réclame que peu de temps.

Le mode de traitement, qui se pratique en cas d'injection et de double coloration, s'indique de lui-même. Les moyens d'oxydation sont superflus, si l'on a injecté avec une masse de carmin ou de jaune de chrome. Dans ces cas, les coupes sont traitées comme si elles n'étaient pas injectées ; on évitera seulement la coloration au carmin dans les injections faites avec cette substance.

(1) On prépare cette térébenthine, en exposant à l'air, à l'abri de la poussière, de la térébenthine ordinaire (recouverte de toile). Elle restera des mois, même un an, autant que possible devant la fenêtre. Quand elle est devenue épaisse et jaune, elle peut être employée.

On obtient la meilleure image des faisceaux de tissu conjonctif sous-cutanés, en pratiquant l'injection dite interstitielle. On injecte du sérum avec une petite seringue, dont la canule effilée est introduite sous la peau d'animaux qui viennent d'être tués, pour enlever aussitôt après quelques-uns des faisceaux flottant dans le foyer liquide sous-cutané et les examiner frais, ou bien l'on injecte une solution de gomme pure qui se prend en masse, pour durcir et couper, ou bien encore on injecte une solution d'argent, (voir coloration à l'argent) pour se représenter ces cellules pavimenteuses, qui entourent les faisceaux de tissu conjonctif.

Appareil digestif.

Cavité buccale. Les préparations sont coupées en petits morceaux sur un cadavre aussi frais que possible. Il est en général recommandable d'examiner, quand c'est possible, des tissus d'animaux au lieu de tissus humains, parce qu'on peut avoir les premiers tout-à-fait frais. Les parties sont durcies dans une solution aqueuse d'acide chromique, ou dans l'alcool. Si l'on emploie le premier de ces liquides, les coupes se colorent difficilement avec le carmin.

Alors il est bon de les laisser longtemps dans l'eau — plusieurs jours, si c'est nécessaire. De même si préalablement on place encore les préparations entières ou les coupes dans le liquide de Müller, elles se colorent mieux. Quant aux préparations plus fines, par exemple celles de la moëlle ou des embryons, que l'on durcit dans l'acide chromique, on ne devra jamais les y laisser trop longtemps, parce qu'elles deviennent alors trop cassantes. On fait bien de les porter dans l'alcool, quand elles sont durcies et si elles ne doivent pas être travaillées de suite.

On voit bien l'épithélium de la cavité buccale sur des embryons humains de 5 mois et plus.

Les doubles colorations de même que les injections sont à recommander.

Pour étudier plus exactement les papilles de la langue, on fait bien d'inclure de tout petits morceaux de cet organe, sur lesquels se trouve une seule papille fongiforme ou caliciforme,

et de la couper entièrement, de façon qu'on l'a répartie sur plusieurs coupes. Les glandes muqueuses sont dans la partie postérieure de la langue.

Les bourgeons gustatifs se voient le mieux sur la papille foliée des parties latérales de la langue de lapin ou de cheval. Egalemeut sur les deux grosses papilles de ces derniers animaux, qui correspondent à peu près par leur siège au foramen coecum de l'homme, il y a de beaux bourgeons gustatifs, un peu plus longs que chez l'homme. On isole les cellules de ces bourgeons au moyen des procédés ordinaires de macération. Dans la macération de ces espèces de tissus, il faut toujours laisser sur l'organe une certaine quantité de mucus ou en ajouter, pour diluer ainsi le liquide. Les tissus restent plus mous dans une substance organique muqueuse et ne sont pas cassants.

Œsophage. Pour apprendre à connaître les plis de la muqueuse, il faut faire des coupes longitudinales et transversales. Les glandes muqueuses, dans l'œsophage, comme dans tout l'appareil digestif, sont les plus belles chez le chien. Il est instructif d'enlever ensemble l'œsophage et la trachée d'enfant ou de lapin, de durcir et de faire des coupes transversales, qui comprennent les deux conduits.

La double coloration avec l'acide picrique et le carmin donnent de belles préparations de l'œsophage.

Estomac. Coupes longitudinales et transversales des glandes à pepsine. On a soin que dans les coupes, la muqueuse ne se sépare pas des couches sous jacentes.

Préparations d'injection. Les glandes à pepsine de la muqueuse stomacale fraîche ou durcie dans l'alcool se laissent bien isoler, d'après les deux méthodes données à propos du traitement des reins. Il est nécessaire de dissocier l'estomac frais dans une goutte de solution de sel marin, d'examiner les glandes avec leurs grosses cellules principales, l'épithélium de la surface interne, etc.

Il est intéressant d'observer isolément les glandes de l'estomac, sans nuire à leur forme en les dissociant. A côté des méthodes, qui ont été indiquées, (reins) la digestion par la pepsine est très utile pour séparer des parties de tissus incluses dans du tissu conjonctif. C'est pourquoi il sera ici question de la digestion en général, pour autant qu'elle est

employée en histologie. On peut digérer avec le suc de l'estomac et avec le suc pancréatique. 1° Digestion par la pepsine. On réduira à un petit volume la muqueuse détachée d'un estomac de mammifère, et on la digérera avec de l'acide chlorhydrique de 1:1000 (voir page 25) ou avec de la glycérine. On filtre après quelques jours, et l'on a un liquide de digestion, qui pour un usage ultérieur est encore mélangé avec 2—10 fois son volume d'acide chlorhydrique à la même concentration.

On peut aussi, si l'on a de l'extrait de glycérine, employer de l'acide oxalique à 0,5%, et on prend, si l'extrait est très bon, cet acide au centuple.

Si l'on veut par exemple digérer un morceau d'estomac, on le porte dans une éprouvette, on ajoute le liquide de digestion acidifié et on le place dans une couveuse. (Voir *Embryologie* page 90.) Quand on croit la digestion assez avancée, on verse le tout sur un verre de montre, et l'on porte les flocons à examiner sur le porte-objet.

Comme on le voit facilement, ce procédé ne convient pas pour les fins organes ou les fines coupes. On doit les digérer dans une goutte de liquide digestif sur le porte-objet. Cette goutte doit de temps en temps être renouvelée, car il ne faut jamais oublier que le liquide digestif n'agit que quand il ne contient pas trop de produits de digestion. Pour mettre la goutte à l'abri de l'évaporation, il ne suffit pas que la couveuse soit couverte, il est bon d'y mettre une boîte, que l'on peut fermer et dont le fond est recouvert d'eau, et de placer à son niveau le porte-objet, naturellement dans une position bien horizontale. J'ai à peine besoin de mentionner que la préparation doit être portée à la température du corps de l'animal (un peu moins ne nuit en rien).

Dans la digestion par la pepsine sont dissouts le tissu conjonctif, la substance élastique, de même que les tissus cornés après une longue action, et tous les véritables corps albumineux. Par contre, tous les noyaux et la substance amyloïde restent insolubles.

2° Digestion pancréatique. Du pancréas frais de bœuf est réduit à un petit volume, et extrait jusqu'à épuisement par l'alcool et l'éther. Après que l'éther s'est évaporé, une partie en poids de la substance ainsi obtenue est mélangée avec 5—10 parties en poids d'acide salicylique de 1:1000, et tenue pendant 3—4 heures à une température de 40° C; elle est alors exprimée à travers une compresse de toile et filtrée après refroidissement. Si l'on n'a pris que 5 parties en poids d'acide, cette solution employée en qualité de liquide digestif, comme la solution de pepsine, dont il a été question plus haut, a la propriété de ne pas dissoudre le tissu conjonctif,

Il ne dissout pas plus que la pepsine : les noyaux, la substance cornée et amyloïde.

Par contre, il dissout la trypsine, la mucine et le tissu élastique, comme la pepsine. Il est à peine nécessaire de mentionner que ces méthodes sont d'un grand emploi (1).

(1) Pour plus de détails sur la digestion en histologie : Kühne et Ewald : Digestion comme méthode histologique. Communications de la Société des Sciences

Pour voir les deux espèces de cellules glandulaires, de même que les plus fines différences du revêtement cellulaire aux diverses hauteurs des glandes, il faut des méthodes de coloration délicates.

On y arrive le mieux en lavant à l'eau la muqueuse stomacale de chiens affamés, fraîchement tués ; on la durcit alors dans l'alcool fort, on la coupe et on colore avec le carmin. Pour cette coloration, on se sert d'un carmin préparé d'après la méthode de Beale (page 46), dont on ne fait qu'enlever l'alcool. Ce carmin est dépouillé avec l'acide acétique ou par la chaleur de son ammoniacque libre, jusqu'à ce qu'un verre de montre, qui en est rempli et est resté 24 heures à l'air libre, laisse précipiter tout le carmin par l'évaporation du restant de l'ammoniacque. Dans un tel carmin, seront placées les coupes faites avec l'alcool. Le verre de montre, qui les contient, est placé dans une boîte en verre qu'on peut fermer, et à côté de lui se trouve un deuxième verre de montre, qui est rempli d'eau ammoniacale faible, pouvant encore être reconnue par l'odorat. L'ammoniacque du deuxième verre de montre s'évaporant fait que le carmin reste dissout pendant les 24—28 premières heures.

Après 24 heures, les coupes sont lavées dans de la glycérine diluée, placées ensuite dans de la glycérine concentrée, et exposées, comme tantôt aux vapeurs d'ammoniacque, maintenant à une petite quantité d'acide acétique qui se vaporise.

Après 24 heures, l'opération est finie, les cellules de recouvrement sont colorées ; des cellules principales, il n'y a de colorés que les noyaux. Les coupes sont conservées dans la glycérine.

On obtient aussi de très beaux résultats par les colorations avec le bleu d'aniline soluble dans l'eau dans la proportion d'1 gramme pour 100 c. c. d'eau. Les coupes y séjournent jusqu'à coloration bleu foncé ; alors elles sont lavées dans une grande quantité d'eau distillée, où les parties qui ont peu de tendance à se colorer, pâlisent de nouveau ; de cette façon, on arrive à une belle séparation des tissus. Il va de soi que cette méthode est à employer aussi pour d'autres organes, de même que la coloration avec le bleu d'aniline insoluble dans l'eau. Avec ce dernier, on colore dans une solution alcoolique saturée. Les coupes sont lavées après la coloration ; elles ne peuvent plus dès lors être traitées par l'alcool, mais elles seront examinées et montées dans la glycérine, qui ne doit pas être mélangée à de la créosote.

Enfin on peut, et c'est spécialement à recommander pour l'estomac, combiner la double coloration au carmin et à l'aniline (alcoolisée) : les coupes de la paroi de l'estomac durcies dans l'alcool absolu sont placées, pendant 24 heures, dans une solution concentrée d'aniline alcoolisée ; elles sont alors lavées dans l'alcool et de suite placées dans une solution de carmin ne contenant plus d'ammoniacque libre. Ces préparations sont aussi montées dans la glycérine.

naturelles et médicales de Heidelberg, 1^{er} volume, 5^e cahier, et Kühne : Courte indication sur l'emploi de la digestion dans l'analyse des tissus. Examens à l'Institut physiologique de Heidelberg, volume I.

Intestin grêle. Coupes longitudinales et transversales. On les distingue facilement par le fait que, sur une coupe longitudinale, la couche musculieuse interne est coupée transversalement, tandis que c'est l'externe, sur la coupe transversale. Coupes de surface par les cryptes. Préparations d'injection. Les villosités sont coupées avec les ciseaux et examinées à l'état frais. Préparations du même genre dissociées. L'image des villosités et des cellules épithéliales avec leur bordure de bâtonnets permet de distinguer facilement l'intestin grêle d'autres parties du tube digestif. Chez la poule, on peut saisir une villosité avec la pincette et l'arracher. Autour de sa base, adhèrent alors les cryptes. Ceux-ci sont examinés, à l'état frais.

On coupe les glandes de Peyer ou le cœcum. Pour voir les follicules remplis de chyle, on tuera un jeune chat à la mamelle, en serrant fortement un cordon derrière les extrémités antérieures. On le laisse un jour exposé au froid. Pendant ce temps, le chyle blanc se coagule, et peut alors être examiné dans les sinus lymphatiques, au moyen de la loupe.

Les premiers, c'est-à-dire, les voies du chyle circulant à l'intérieur du parenchyme des villosités, de même que l'espace central des villosités peuvent être injectés. Dans ce but, on pique avec une très fine canule la muqueuse, et on exprime dans son tissu quelques gouttes de masse de bleu de Berlin. On voit déjà à l'œil nu, si la masse a pénétré dans les villosités. Il est plus beau et plus probant de surprendre les gouttelettes de chyle dans leurs premières voies. Dans ce but, on nourrit un animal, autant que possible un rat, d'une nourriture riche en graisse, et on le tue 3-4 heures après, sans lui amener de crampes, par exemple avec le curare. Les morceaux d'intestin sont durcis dans le liquide de Müller, alors ils sont placés — environ 24 heures — dans de l'acide osmique à 0,5 %, jusqu'à ce qu'ils deviennent noirs ; ils peuvent alors être conservés dans le liquide de Müller, jusqu'au moment de la coupe. Ces préparations sont coupées, en portant de petits morceaux sur une plaque de bouchon dans une goutte d'une solution gommeuse, qui est mélangée avec un peu de glycérine. On les laisse sécher et on les traite, d'après ce qui est dit à la page 55. Les préparations finies sont ramollies dans l'eau, et montées dans la glycérine, mélangée à un peu de créosote.

Pour voir la bordure des cellules épithéliales, on choisira un cochon d'inde, on ouvrira l'intestin de l'animal fraîchement tué, et on raclera la face interne avec le tranchant d'une aiguille à cataracte. Ce qui reste adhérent, on le dépose sur un porte-objet ; on n'ajoute pas de liquide, si ce n'est pas nécessaire ; on

n'y place aucun couvre-objet, mais on examine simplement à un fort grossissement. On a habituellement coupé une partie d'une villosité, sur laquelle on voit la bordure, ou bien quelques cellules séparées nagent librement dans le liquide. Si l'on a porté sur la lame de verre trop peu de mucus, de sorte que la préparation sécherait trop vite, on peut ajouter un peu d'humour aqueuse. Le poids du couvre-objet gâte les tissus délicats. Si l'on ne peut éviter son emploi, on mettra dessous un diaphragme.

Souvent la bordure avec la striation n'apparaît bien qu'après quelques minutes. On voit le mieux les bâtonnets dans l'intestin de l'ascaride.

On voit bien le plexus nerveux d'Auerbach, chez le cochon d'Inde, si l'on remplit un morceau d'intestin frais d'acide chromique, et qu'on le place alors dans ce même acide. Après quelques jours, le morceau d'intestin est coupé, étendu, et de l'intérieur, les couches sont soulevées, suivant la série. A l'une des deux couches musculeuses, reste alors adhérent le plexus. Colorer avec le carmin ou l'or (voir plus bas cornée). Le plexus de Meissner est représenté de la même façon.

Gros intestin. Traitement habituel, c'est-à-dire durcissement, coupes longitudinales et transversales, coloration avec le carmin ou double coloration avec le carmin et l'acide picrique; préparations d'injection. Préparations fraîches dissociées.

Glandes de l'appareil digestif.

Glandes salivaires. Durcir dans l'alcool et colorer avec le carmin. Dissocier à l'état frais et durci. Croissants de la glande sous-maxillaire de chien. On peut traiter la préparation avec un peu d'acide acétique.

Par la macération dans de l'acide chromique très dilué, on peut isoler les croissants.

Comparaison de la glande sous-maxillaire irritée ou non. D'un côté, on préparera sur l'animal vivant le nerf lingual, et on l'excitera pendant 5-7 heures par l'électricité. Alors, pendant que l'animal est encore en vie, les deux glandes sont enlevées, coupées avec précaution en morceaux, et

placées dans l'alcool fort. Sur le pancréas, on peut injecter les conduits, en introduisant une fine canule dans le conduit de Wirsung d'un lapin fraîchement tué, et en injectant à une pression de 35 mm. Le commençant trouve difficilement le conduit. On y parvient le mieux, si l'on examine très exactement le mésentère de l'estomac vers le jejunum.

Foie. Pour l'orientation, d'abord une préparation de l'organe, dont les vaisseaux sont injectés, et qui est durcie dans l'alcool. Le mieux, un foie de lapin. Pour l'examen à de forts grossissements, foie non injecté, de sorte qu'on trouve les vaisseaux capillaires comme des espaces entre les rangées de cellules du foie. Ces dernières sont également belles chez la grenouille. Sur de telles préparations, on peut voir aussi les coupes transversales des conduits biliaires, se présentant comme des trous ronds, aux limites entre deux cellules. Les cellules du foie ne se colorent jamais fort avec le carmin. Avec l'hématoxyline, leurs noyaux se colorent très bien. On obtient ce moyen de coloration, si l'on cuit du bois de Campêche avec une solution d'alun modérément concentrée. On peut aussi d'abord cuire avec de l'eau, et ajouter au liquide mal coloré, ainsi obtenu, assez d'alun, pour qu'il devienne d'un beau bleu. Le liquide est filtré, et employé en coloration d'un bleu foncé. Pour de certains buts, on peut encore le diluer davantage. L'hématoxyline colore très vite, de sorte qu'on peut à peine laisser les coupes quelques minutes dans la solution. Elles sont lavées dans l'eau et examinées dans la glycérine. Ce moyen de coloration a surtout la propriété de colorer fortement les noyaux, de sorte qu'il est avantageux de l'employer, où l'on ne les voit pas par les procédés ordinaires. Il colore aussi les corpuscules de tissu conjonctif, mais peu les corpuscules de lymphe et les globules du sang.

Il vaut mieux employer, au lieu de l'extrait de bois de Campêche, la préparation chimique d'hématoxyline elle-même. On la dissout dans l'alcool, et on ajoute quelques gouttes de cette solution rouge-brunâtre à une solution d'alun de 1 : 300. Le liquide est rouge-violet, et on y colore comme plus haut.

Il est intéressant d'étudier avec ce moyen de coloration, les passages entre les cellules de pus et le tissu conjonctif, sur les préparations de tissus enflammés.

Pour voir le tissu propre du foie, on fait bien d'en colorer fortement un morceau dans l'acide osmique (plusieurs heures), de durcir alors dans le liquide de Müller, de couper, et de passer le pinceau sur les coupes. Des cellules du foie fraîches se dissolvent dans une solution de sel marin à 10 %.

Structure tubuleuse du foie de serpent. Double injection. Elle réussit seulement sur des lapins tout-à-fait frais.

D'abord les vaisseaux sanguins sont injectés au moyen de la seringue avec la masse de carmin ; ensuite, par le conduit cholédoque, au moyen d'un appareil, on injecte au bleu de Prusse les capillaires biliaires. On peut s'estimer heureux, si le foie est par places nettement bleu. Une injection aussi complète des voies biliaires que des vaisseaux sanguins, ne réussit jamais, probablement parce que la bile, qui y est contenue, est accumulée, et barre ainsi par places, la route à la masse d'injection. La pression à employer est d'environ 45 mm. On se sert de gros lapins.

Si l'on éprouve des difficultés à injecter les capillaires biliaires avec le bleu de Prusse, on choisira comme masse d'injection une solution filtrée de bitume de Judée dans le chloroforme. Cette masse pénètre plus facilement dans les capillaires, cependant il n'est pas rationnel de faire subir plus tard aux coupes le traitement par la térébenthine. Elles seront examinées dans la glycérine. Dans les deux espèces d'injection, le foie doit aussitôt après l'injection, être placé dans l'alcool.

Gros conduits biliaires et vésicule biliaire, d'après les méthodes ordinaires.

Glandes sans conduit excréteur.

Thyroïde. Chez l'homme, dans nos contrées, elle n'est jamais normale. On reconnaît le mieux la texture sur celle de tortue. On la trouve sur la ligne médiane, ayant la forme d'un corps de la grosseur d'un pois à une fève, au-dessus de l'endroit où les gros vaisseaux venant du cœur se partagent. Parmi les mammifères, le mouton convient le mieux pour étudier cet organe. Le traitement est celui employé ordinairement. Dissociation de glandes thyroïdes fraîches. Gouttes colloïdes.

Capsules surénales. Méthodes ordinaires.

Glande pinéale. Méthodes ordinaires.

Rate et Thymus. Voir glandes lymphatiques.

Organes de la respiration.

Larynx. Méthodes ordinaires.

Trachée id.

Poumons. Pour obtenir une image nette d'un poumon de mammifère, quelques notions sont nécessaires. On prendra un enfant ou un mammifère mort-né, dans les alvéoles pulmonaires desquels il n'y a donc pas encore d'air. Les voies aériennes des poumons sont injectées, à partir de la trachée, avec du beurre de cacao chaud. Le cadavre doit au préalable être chauffé. Par cette injection, le poumon se déplisse, et les alvéoles prennent la forme qu'elles ont sur le vivant. Pendant que la masse de graisse est encore liquide, les artères pulmonaires sont injectées par le ventricule droit avec du bleu de Prusse. Naturellement la trachée, les artères et les veines, aussitôt après l'injection, doivent être liées, ou les canules correspondantes doivent être bouchées, pour que la masse d'injection ne puisse s'écouler. Alors on laissera refroidir, on placera dans l'alcool, on traitera d'après la méthode ordinaire, et on fera des coupes. Ces dernières doivent rester dans la térébenthine, jusqu'à ce que tout le beurre de cacao en soit extrait. On voit ordinairement difficilement sans préparation ultérieure, à cause de leur transparence, des tissus aussi délicats que l'épithélium des alvéoles pulmonaires. De même avec le carmin, il n'y a que leurs noyaux qui se colorent. Dans ces cas, où il ne s'agit que de faire distinguer ce qui est trop transparent, on peut colorer avec l'acide pyrogallique. Les extraits alcooliques de safran et de brous de noix rendent les mêmes services. En outre on colore avec la fuchsine dissoute dans l'alcool, avec l'éosine, avec le bleu d'aniline soluble dans l'eau et d'autres couleurs d'aniline ;

mais toutes ne différencient pas aussi bien que d'autres moyens déjà nommés, et avant tout le carmin.

Le cours du sang dans le poumon vivant, on peut le voir très bien sur la grenouille curarisée, comme il a été dit page 15.

Système vasculaire.

On étudie la structure du cœur et des gros vaisseaux, au moyen des méthodes de macération et de durcissement, qui ont été souvent indiquées.

Pour voir comment se distribue une fibre musculaire du cœur de mammifère, on colorera avec le nitrate d'argent ou l'on macérera dans une solution de potasse à 1 %. Une fibre qui a été traitée par l'argent, se laisse encore séparer par la potasse.

On voit distinctement les épithéliums en traitant par le nitrate d'argent ; celui-ci a la propriété, à un haut degré, de colorer en noir la substance, qui tient unies entre elles les cellules épithéliales. Sur les vaisseaux capillaires, par exemple du mésentère, on voit après cette coloration, des lignes noires, qui ressemblent aux limites des cellules épithéliales.

La coloration par le nitrate d'argent a lieu d'une manière générale (il faut presque un traitement modifié dans les détails pour chaque organe), si l'on place un petit morceau de la préparation à examiner dans une solution aqueuse de nitrate d'argent de 1/10 à 1 %. Le plus avantageux est de se servir de préparations fraîches. La préparation ne reste, dans la plupart des cas, que quelques secondes dans la solution, jusqu'à ce qu'elle apparaisse blanchâtre et opaque. Pour d'autres buts, elle y reste depuis quelques heures, jusqu'à un jour entier. Consécutivement, la préparation sera lavée dans de l'eau contenant de l'acide acétique, et exposée à la lumière dans cette dernière ou dans la glycérine. Dans ces conditions, elle devient sombre, et si on l'a laissée trop longtemps dans la solution, elle le devient au point de ne plus pouvoir être examinée. Dans ce cas, il faut attendre le moment de la meilleure coloration et ne pas tarder. Ce moment est celui où les différentes parties du tissu de la préparation montrent les plus grandes différences dans la coloration.

On peut aussi employer sur le porte-objet ce procédé qui sert à assombrir la préparation.

La coloration au nitrate d'argent, appartient avec la coloration par l'or, dont il sera parlé plus tard, aux méthodes les plus dangereuses de l'examen microscopique. Elle fournit généralement les images les plus belles et les plus distinctes, qui sont souvent liées avec des dessins erronés, en ce sens qu'ils n'appartiennent pas à l'organe examiné. Il ne faut jamais perdre de vue dans l'interprétation des préparations traitées par le nitrate d'argent, que cette solution est aussi en état de donner, sur un verre propre, les dessins les plus gracieux, par exemple, une mosaïque de cellules avec leurs noyaux capable de tromper, à ce point que, vue sur une membrane, elle serait prise à peine sans hésitation pour une couche épithéliale. Si l'on a des raisons d'employer ce réactif, et si l'on veut avancer sûrement dans l'interprétation des faits nouveaux, il ne reste rien d'autre à faire que d'avoir pour principe de ne considérer comme appartenant à l'objet que ce qu'on peut aussi voir définitivement sans coloration par le nitrate d'argent.

Pour voir l'épithélium des vaisseaux, on peut injecter la solution de nitrate dans le cadavre et produire ainsi de l'intérieur sur les vaisseaux, les dessins de l'épithélium. Pour éviter la formation des caillots dans les vaisseaux, on les lave au préalable avec une solution de nitre à 1/8-1/4 %.

Les images deviennent encore plus nettes et plus belles, si après l'injection de nitrate, on injecte de la colle pure, de façon à faire gonfler les vaisseaux.

Dans cette méthode, on laisse seulement agir une demi-heure la solution de nitrate à 0,5 %, on fait une pause de quelques minutes, et on injecte alors la colle que l'on peut aussi avoir colorée avec un peu de bleu de Prusse.

Si l'on a préparé des coupes de petites artères durcies, on voit de fortes stries dans leur lumière, surtout si elles sont obliques. Ce sont les saillies de la membrane intime plissée.

On examine le plus facilement de très petites artères et des veines sur une plus grande étendue, en dissociant sur le porte-objet une rétine fraîche ou une pie-mère ou le plexus de la choroïde hors des ventricules, ou bien en y étendant la préparation. On voit très bien dans les derniers vaisseaux les muscles circulaires.

Les noyaux placés transversalement leur appartiennent, ceux placés longitudinalement sont aux cellules épithéliales.

Vaisseaux et glandes lymphatiques.

On peut appliquer aux grands vaisseaux lymphatiques, ce qui a été dit des vaisseaux sanguins. Dans certaines parties,

il est facile d'injecter les vaisseaux lymphatiques; tels que par exemple ceux du mésentère et de l'intestin de la grenouille. Dans ce but, on ouvre la cavité abdominale d'une grenouille fraîche, on met d'un côté la masse intestinale, jusqu'à ce que l'on voie de l'autre, l'aorte abdominale.

Celle-ci est couverte par une partie du mésentère, qui est divisé devant la colonne vertébrale, pour cacher entre ses deux feuillets un sac lymphatique.

Si l'on soulève l'un des feuillets situé sur l'aorte, que l'on y fasse une fente pour introduire une canule et que l'on injecte, en tenant les deux lèvres de l'ouverture avec le doigt ou avec une pincette, à une pression d'environ 70 m/m , les vaisseaux lymphatiques susdits se remplissent à partir du sac. On peut de la même manière injecter les vaisseaux lymphatiques de tortue.

On peut injecter le commencement des vaisseaux lymphatiques à quelques places du corps.

Cette opération se pratique ainsi sur le diaphragme. Un lapin fraîchement tué est divisé en deux à l'insertion du diaphragme, de façon que celui-ci reste à la moitié antérieure du corps. Cette dernière est maintenant fixée avec la paroi du ventre sur un anneau, de manière qu'en regardant d'en haut par cet anneau, on voit la face concave du sommet du diaphragme. La tête et le thorax de l'animal sont naturellement dans ce cas inclinés vers le bas. Ces parties sont plongées dans un bain d'eau chaude, aussi profondément que possible, sans que l'eau arrive jusqu'au sommet du diaphragme. Avant de mettre l'animal dans l'eau, une canule sera introduite dans la trachée, pour établir consécutivement la respiration artificielle. Toutes ces manœuvres seront faites assez vite, pour que la lymphe n'ait pas le temps de se coaguler dans les petits vaisseaux. Dans la concavité du sommet du diaphragme, on versera du bleu de Prusse, et on fera aussitôt la respiration artificielle.

Après un $\frac{1}{4}$ ou $\frac{1}{2}$ heure, la masse à injection a pénétré dans les embouchures des vaisseaux lymphatiques; on peut faire écouler le surplus de l'injection, et placer le tout dans l'alcool. Pour le reste, c'est le traitement ordinaire; seulement il faut encore débarrasser complètement, au moyen du pinceau, la surface du diaphragme du bleu de Prusse qui y adhère.

Le centre tendineux est enlevé par morceaux, rendu transparent et étendu sur le porte-objet.

On pratique l'injection des vaisseaux lymphatiques des tendons, en enfonçant de très fines canules, en forme d'aiguille, à une place brillante, (au point d'union du fascia lata et du quadriceps fémoral de jeune chien) et en faisant pénétrer avec précaution la masse d'injection. Au lieu du bleu de

Prusse, on emploie avec avantage une solution d'alcanine dans la térébenthine.

Comparer aussi l'injection du testicule p. 77.

Les *glandes lymphatiques* appartiennent aux parties les plus difficiles à examiner au microscope. On comprend le plus facilement leur structure, si on procède de la manière suivante. Une grosse glande lymphatique injectée des vaisseaux sanguins est durcie dans l'alcool et coupée. Une coupe bien réussie est touchée au pinceau et à l'alcool sur le porte-objet ; c'est-à-dire qu'avec un fin pinceau toujours imbibé d'alcool, on passera sur la coupe, jusqu'à ce que la partie moins résistante des cellules lymphatiques s'en détache. Ce travail dure environ 1/2 - 1 heure. Quand on est assez avancé, on peut colorer la coupe ou l'examiner directement.

On reconnaît alors la trame du tissu adénoïde, les rangées de cellules et les voies lymphatiques, de même que leurs rapports avec les vaisseaux et les traînées plus grossières de tissu conjonctif.

Quand on a coupé la périphérie des glandes lymphatiques, on reconnaît aussi les particularités de la substance corticale. On voit le mieux les sinus lymphatiques sur les follicules de l'intestin. Ici on peut aussi les voir remplis de chyle, comme il a été exposé plus haut. Les voies lymphatiques des glandes sont injectées par les vaisseaux afférents des grosses glandes lymphatiques. On se sert d'une masse de bleu de Prusse, contenant peu de colle, et on injecte sous une faible pression, de sorte que les conduits lymphatiques seuls se remplissent.

La rate peut également être débarrassée par le pinceau de ses cellules. On apprend à connaître les éléments de la rate sur des préparations fraîches et macérées, en dissociant le tissu. Le système vasculaire intermédiaire se remplit facilement par l'injection.

Si on lie brusquement sur un animal vivant tous les vaisseaux de la rate, on trouve consécutivement des corpuscules sanguins dans les voies intermédiaires.

L'insertion des corpuscules de Malpighi aux vaisseaux de la rate se voit le plus facilement sur celle de cochon. On la déchire et on la pétrit dans l'eau, de façon que toutes les cellules de la pulpe soient enlevées par le lavage, et on dissocie la trame qui reste.

Pour le *thymus*, on se sert des méthodes ordinaires. Par la dissociation, on trouve facilement les corpuscules concentriques.

Systeme génito-urinaire.

Reins. Injectés et traités d'après la méthode ordinaire. Chez les petits animaux, il est facile de faire des coupes du rein entier. On le fait pour obtenir une vue d'ensemble. On fera alors des coupes aussi fines que possible de la substance corticale, puis de la substance médullaire dans la direction de la hauteur des pyramides, et transversalement à cette dernière, pour bien voir l'épithélium des canalicules. Les préparations obtenues par la dissociation sont surtout belles chez les petits mammifères (souris, rats, etc.).

On peut isoler les canalicules urinifères en dissociant le tissu, si l'on place, pendant 12—24 heures, dans de l'acide chlorhydrique, des tranches minces du rein, faites dans la direction de ces canalicules.

On prépare cet acide en diluant de l'acide chlorhydrique fumant avec 5—6 fois son volume d'eau.

On fait bien d'ajouter une petite quantité de glycérine (environ le 1/8 du volume de l'acide chlorhydrique dilué) Ce mélange détruit partout le tissu conjonctif, de sorte qu'il peut servir à isoler par exemple, les corpuscules du tact de leurs nerfs et ainsi de suite.

On peut aussi traiter de cette manière des préparations durcies dans l'alcool ; seulement, elles réclament 1 à 2 jours de macération.

En outre les deux méthodes suivantes sont à recommander : D'après la première, on prépare un mélange de 100 volumes d'une solution concentrée de chlorate de potasse avec 7 volumes d'acide nitrique fumant. Les morceaux de reins sont chauffés, pendant quelques minutes, avec ce liquide, dans un tube à réaction, jusqu'à ce qu'il s'y montre des flocons. La préparation est alors lavée à l'eau et dissociée. Les canalicules urinifères de la substance des pyramides se séparent avec facilité. L'épithélium est assez bien conservé.

D'après la deuxième méthode, on fait un mélange de 5 volumes d'acide

chlorhydrique fumant avec 400 volumes d'alcool (j'emploie de l'alcool à 96%). Dans ce liquide, le rein est chauffé pendant 4-8 heures, également jusqu'à ce que les premiers flocons se montrent. Pour éviter de verser de nouveau de l'alcool qui s'évapore, on a recours à l'artifice suivant. Il est chauffé dans une cornue, fermée avec un bouchon, par lequel passe un tube en verre ouvert, long de 2 mètres. Il en résulte que la vapeur d'alcool se refroidit, par suite du long parcours, est plus concentrée, et retombe en gouttes, comme alcool, dans la cornue. Après cette opération, les préparations sont mises dans l'eau.

L'action de ces méthodes repose aussi sur la destruction et la solution du tissu conjonctif. Elles peuvent donc être employées partout avec avantage, quand il s'agit d'isoler des éléments qui sont réunis par du tissu conjonctif.

On peut injecter les voies urinaires par l'urètre avec le bleu de Prusse; cependant la masse ne pénètre pas habituellement loin. Si on emploie un appareil, on élève peu à peu la pression jusqu'à 80 mm.

Je veux attirer l'attention sur ce fait, que, dans les injections des vaisseaux sanguins, parfois la colle de la masse d'injection est pressée hors des glomérules, remplit les capsules de Malpighi, et pénètre un peu dans les canalicules urinifères. Le bleu de Prusse ne suinte pas à travers. La colle se colore très bien avec le carmin, de sorte que de cette manière, la première voie urinaire paraît avec la colle injectée en rouge.

On peut injecter beaucoup mieux les canaux urinifères par les vaisseaux sanguins (également le commencement des voies biliaires dans le foie) d'après la méthode suivante. Sur un lapin vivant, la veine jugulaire est mise à nu; on en tire environ 40 cc. de sang. Ensuite on y injecte une égale quantité d'une solution concentrée de sulfate de soude indigotique. Aussitôt après l'injection, la cavité du ventre est ouverte et les urètres sont liés. Après 5/4 à 1 heure, la matière colorante est sécrétée et remplit les canaux urinifères, avec leurs cellules épithéliales.

L'animal est alors tué par hémorrhagie et les vaisseaux sanguins sont injectés avec une masse de carmin, pour cacher la matière bleue qui y est retenue. Au lieu d'indigo, on peut aussi injecter une solution de carmin, (7 grammes carmin, 5.5 grammes d'eau ammoniacale forte et 50 grammes d'eau distillée) et remplir ensuite les vaisseaux avec le bleu de Prusse.

Pour voir le tissu propre, on peut débarrasser les coupes avec le pinceau.

Urètre et vessie. Méthodes habituelles. Double coloration.

Organes génitaux de l'homme. Méthodes habituelles. Pour

tenir le plus longtemps possible les zoospermes en vie, on placera le testicule entier dans un endroit froid. Ils seront examinés dans les liquides déjà indiqués, qui servent à l'examen des organes frais, ou dans une solution de sucre de canne à 10 %.

On a de belles préparations d'ensemble, si l'on coupe transversalement un pénis d'enfant injecté. Pour se faire une idée exacte de la manière dont la lymphe coule dans les tissus, on injecte le testicule ou l'ovaire d'un lapin fraîchement tué, en faisant une piqûre; c'est-à-dire qu'on remplit une seringue de Pravaz d'une solution de bleu de Prusse (sans colle), on enfonce la canule dans le parenchyme à quelques millimètres de profondeur et on pousse la masse d'injection. On la trouve bientôt dans les vaisseaux lymphatiques qui courent le long du cordon spermatique, et on peut la poursuivre facilement jusqu'au conduit thoracique par une pression douce du testicule, respectivement de l'ovaire. Si l'on durcit une telle glande sexuelle et qu'on la coupe, on voit que la masse d'injection, comme la lymphe le fait du reste, imbibe les traînées de tissu conjonctif comme l'huile le fait pour la mèche d'une lampe, et comment les voies lymphatiques ne se transforment que peu à peu en vaisseaux (1).

Organes génitaux de la femme. Méthodes habituelles. Les organes génitaux ne peuvent être bien injectés que par l'aorte descendante. On peut lier les artères crurales, pour épargner la masse d'injection.

Pour s'orienter sur la situation respective des différentes parties, la méthode suivante est à recommander. Les organes génitaux injectés d'un enfant sont enlevés en totalité, en séparant les organes internes de la paroi du ventre, et en les préparant jusqu'à l'ouverture inférieure du petit

(1) Le mécanicien Holzhauser à Marburg (Allemagne) construit les meilleures canules pour faire les piqûres. Elles se bouchent naturellement très facilement; aussi faut-il avoir soin de n'y introduire aucune granulation et d'y passer chaque fois un fil, quand on s'en est servi.

bassin. Ensuite les organes génitaux externes sont détachés par une section circulaire de la peau et enlevés également, opération pendant laquelle on a soin de séparer tout près de l'os, le clitoris et les corps caverneux et de ne pas blesser le vagin. Quand les organes génitaux externes sont également disséqués jusqu'à l'ouverture du bassin, on peut facilement attirer les internes par cet orifice. Toute la préparation est durcie dans une situation telle qu'il soit possible plus tard de faire des coupes antéro-postérieures, qui comprennent tous les organes génitaux. On décompose de cette manière la préparation de droite vers la gauche, dans une série de coupes microscopiques, dans lesquelles les différentes parties se rencontrent. L'achèvement de ces très grandes coupes offre une certaine difficulté. Si l'on ne réussit pas, on coupera le vagin transversalement à peu près dans la moitié de sa longueur, puis l'utérus ainsi que la partie supérieure du vagin dans le sens antéro-postérieur et la partie inférieure du vagin avec les organes génitaux externes dans le sens transversal. On peut se permettre, dans ces préparations d'ensemble, de faire des coupes relativement épaisses, puisqu'elles ne sont destinées qu'à de faibles grossissements. Elles sont rendues transparentes par l'essence de girofle, après avoir été colorées. Pour monter ces coupes épaisses, la résine d'Amman ne convient pas. Elles y perdent leur transparence. On lui préférera une solution consistant en une partie d'essence de girofle et 2-3 parties de mastic du commerce.

On peut toujours employer ce mélange, si on veut monter des préparations épaisses.

Cependant on se gardera d'y introduire des bulles d'air en l'agitant, comme elles n'apparaissent à la surface de la masse très consistante qu'après quelques jours.

Systeme nerveux central.

Moëlle-épineière. — Pour avoir une vue d'ensemble, on coupera la moëlle-épineière relativement simple de brochet, de carpe ou de tortue, qui est durcie dans l'acide chromique, à 0,25 %, ou dans l'alcool. Si l'on a durci la préparation dans l'acide chromique, et que l'on ne veuille pas aussitôt s'en servir, on la placera dans l'alcool, parce qu'elle devient très friable et très cassante, en séjournant trop longtemps dans cet acide.

On fera des coupes perpendiculaires à l'axe longitudinal. Les coupes durcies dans l'acide chromique se colorent très difficilement avec le carmin. On peut remédier à cet inconvénient jusqu'à un certain point, en enlevant soigneusement l'acide

chrômique avec de l'eau ; dans ce but, on laissera séjourner les coupes dans l'eau, parfois une semaine entière. Comme ce moyen leur est habituellement préjudiciable, on emploiera dans ce cas, au lieu d'eau, du chrômate double de potasse en solution concentrée.

Après ce traitement, elles s'imprègnent ordinairement mieux du liquide colorant. Si l'on n'arrive pas ainsi à un résultat favorable, on placera les coupes dans un verre de montre rempli de carmin, que l'on maintient bouillant au bain-marie ; après 2—5 minutes, les coupes sont colorées et peuvent être lavées dans l'eau. S'il s'agit de finir vite les préparations, cette méthode est d'autant plus à recommander qu'elle produit de très belles colorations. Cette méthode d'Obersteiner n'est pas seulement applicable au système nerveux. Cependant des organes durcis dans l'alcool ne peuvent être traités de cette manière. Le carmin colore fortement le cylindre de l'axe, et pas du tout la moëlle du nerf. Un moyen de coloration assez employé pour la moëlle épinière, qui a l'avantage d'agir toujours, est le bleu d'aniline soluble dans l'eau. (Voir la méthode p. 65) Pour les préparations à l'acide chrômique, on peut aussi employer le chlorure d'or et de potasse. On colorera aussi exactement qu'avec le chlorure d'or. Il est bon d'employer également ici un liquide de réduction. La trame du tissu est représentée par la digestion de la trypsine (pancréas) (voir p. 64).

On reconnaît mieux certaines finesses de texture d'après ces deux méthodes, qui certainement sont un peu compliquées.

La première consiste en ceci : la moëlle-épinière d'un enfant est durcie en petits morceaux, dans une solution de chrômate double d'ammoniaque, à 1 ou 2%.

Ceci dure 15 à 20 jours. Pendant ce temps, la préparation doit séjourner dans un endroit frais. Les coupes sont placées, pendant 10 à 12 heures, dans une solution d'une partie de chlorure de potasse et d'or pour 10,000 parties d'eau, qui contient de l'acide chlorhydrique très faible. Il faut laver dans une partie d'acide chlorhydrique pour 2 à 5,000 parties d'eau. Séjour de 10 minutes dans 1,000 parties d'alcool à 60 % pour une partie d'acide chlorhydrique. Quelques minutes dans l'alcool absolu. Ensuite, essence de girofle, baume de Canada. Après 3 ou 4 heures, les réseaux des fibres nerveuses apparaissent. Deuxième méthode : Encore la moëlle épinière

chaude (de bœuf ou de veau) coupée en tranches longitudinales aussi fines que possible. Elles sont placées immédiatement dans une solution d'une partie de chrômate double d'ammoniaque pour 5 à 10,000 parties d'eau, où elles séjournent 2 à 3 jours, dans un endroit frais. Colorées, pendant 24 heures, dans du carmin très dilué. Les coupes sont lavées avec de l'eau, dissociées sous la loupe, et conservées dans la glycérine.

Moëlle épinière de l'homme, moëlle allongée, etc.; on les durcit le plus commodément dans un mélange à parties égales d'acide chrômique à 0,25 %, et de chrômate double de potasse concentré.

Avant la coloration, les coupes doivent être lavées dans l'eau.

Cerveau. — Durcissement dans le liquide, qui vient d'être nommé. Coloration comme pour la moëlle.

Comme il est important ici, à cause de l'étude de la direction des fibres, de faire de très grandes coupes, on devait penser à trouver des méthodes, qui rendent possible le fait mécaniquement, et telles qu'elles permettent de durcir de grandes parties du cerveau ou des cerveaux entiers.

Pour ce qui concerne la coupe, c'est en grande partie le fait de l'habileté et de l'exercice. Mais il faut donner ici quelques indications. On choisira un rasoir plat et large, dont la lame ne présente sur le dos aucune saillie, pour que la coupe puisse y être suspendue.

On coupera sous un courant d'eau, dirigé sur le rasoir, de façon que la partie libre de la coupe flotte toujours, et soit tenue dans la situation que l'on désire. On peut dans ce but se servir d'une bouteille à injection. Au tube se terminant dans celle-ci au-dessus du niveau d'eau, on a ajouté un tube en caoutchouc, que l'on tient en bouche, pour rendre à volonté le jet d'eau faible ou fort. De cette manière, il est possible de faire des coupes à travers des hémisphères entiers.

Avec les appareils que l'on emploie depuis ces derniers temps, il est possible, même sans avoir acquis une grande pratique, de faire des coupes microscopiques qui ont toutes les dimensions voulues. Ces microtômes sont construits différemment; aussi est-il impossible de donner une indication sur leur emploi.

Leur construction repose sur ce fait que les préparations incluses dans les masses ordinaires sont fixées, et que le couteau glissant dans une direction peut être conduit avec une grande sûreté à travers l'organe. Le traitement de toute la préparation doit aussi se faire ici naturellement d'après les règles données. Pour les grandes coupes du cerveau, les microtômes, construits d'après Gudden, par le mécanicien Katsch, à Munich, sont la plupart à recommander.

Pour d'autres buts, des plus petits (et à meilleur compte) rendent aussi des services.

S'il ne s'agit pas de coupes absolument trop grandes, on procède à la manière ordinaire.

Pour le durcissement de cerveaux entiers ou de grandes parties, on emploiera l'alcool absolu auquel on donne une couleur de vin, en ajoutant quelques gouttes de forte teinture d'iode. Après un jour, l'alcool pâlit ordinairement ; on ajoutera de nouveau de la teinture d'iode, et cela jusqu'à ce que la coloration se maintienne. Alors la préparation est portée dans une solution aqueuse de chromate de potasse, où elle reste jusqu'à ce qu'on puisse faire des coupes.

On est souvent dans le cas de devoir démontrer macroscopiquement sur des cerveaux durcis dans l'alcool, les ganglions, les traînées de substance blanche à travers ceux-ci, etc. Sur ces cerveaux, la différence de coloration de la substance blanche et de la substance grise est habituellement très minime. Si l'on colore avec le bleu d'aniline soluble dans l'eau (page 65) un morceau de cerveau ou des coupes épaisses de plusieurs millimètres, faites par la partie du cerveau à examiner, la substance grise devient d'un beau bleu, par un degré exact de coloration, tandis que la blanche n'est presque pas colorée.

Pour pouvoir employer en très peu de temps, c'est-à-dire rendre transparentes les coupes du système nerveux central, on les placera de l'esprit de vin dans l'éther, et de là dans le chloroforme, où elles deviennent de suite transparentes. Du chloroforme, la coupe peut venir dans le baume de Canada ou la résine d'Amman.

Pour représenter le reticulum des fibres nerveuses de la substance corticale du cerveau, découvert récemment par Rindfleisch et Gerlach, on peut employer la méthode par l'or exposée page 79, ou l'on peut laisser macérer, pendant 10—14 jours, un petit morceau de cerveau dans de l'acide osmique à 1/10 %, et conserver ensuite pendant une semaine dans la glycérine. Un petit morceau de la substance cérébrale devenue cassante est déposé sur un porte-objet, dans une goutte de glycérine, et couvert d'une lamelle de verre, qui est pourvue de petits pieds de cire. Le couvre-objet doit toucher la goutte, mais non le petit morceau de cerveau. Il est comprimé dans son milieu pour se relever de suite ; de cette façon, la préparation nage dans le courant du liquide qui est ainsi produit, et l'observation est plus facile.

Les vaisseaux sanguins du cerveau sont injectés par les vaisseaux du cou ou mieux par le cœur. Les vaisseaux lymphatiques se remplissent par places comme espaces périvasculaires et péricellulaires, si l'on enfonce la canule dans l'espace épicerébral, (sous la pie mère) et si l'on y injecte du bleu de Prusse contenant un peu de colle. On réussit déjà par une pression de 20—50 mm. à remplir les voies lymphatiques. On peut aussi enfoncer la canule directement dans la masse du cerveau et injecter.

Organes des sens.

Œil. On durcira dans le liquide de Müller des globes oculaires frais, proprement préparés, en ayant eu soin, pour faci-

liter la pénétration, de faire avec un fin rasoir dans le sens de l'équateur, une coupe des membranes qui intéresse la moitié de la circonférence du globe. Après 2-3 semaines, l'œil est durci, et l'on peut pour s'orienter sur la situation des membranes, inclure des quarts de bulbe et les couper ensuite, de manière à obtenir la réunion de la cornée, de l'iris et des trois autres membranes. L'iris s'accolle ordinairement à la cornée sur ces coupes, et rend difficile au commencement l'orientation, à cause de son changement de situation.

Quand on fait l'inclusion, on placera le secteur, de façon à

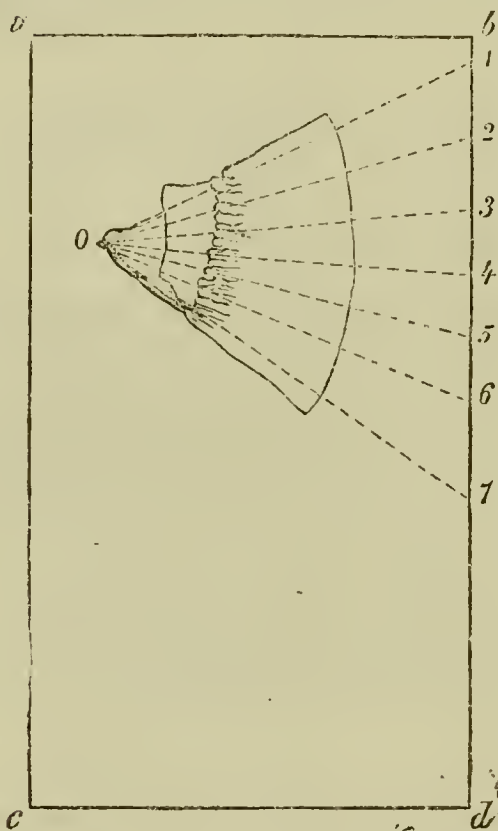


Fig. 6.

pouvoir maintenir la direction de la coupe suivant le méridien, en considérant le sommet de la cornée comme un point fixe, autour duquel les plans de section sont conduits par le globe, comme il est indiqué dans le dessin ci-joint. a b c d est la masse d'inclusion supposée transparente, dans laquelle se trouve le segment de l'œil. Les lignes ponctuées indiquent les directions des coupes, de manière que l'on fait d'abord la coupe 01, en plaçant le rasoir suivant cette ligne et en coupant perpendiculairement au plan dessiné, puis l'on passe

insensiblement pendant cette opération à la position 02 et ainsi de suite.

L'injection des vaisseaux sanguins de l'œil se pratique le plus commodément par l'injection de l'aorte ascendante (chez les petits animaux). On injecte les espaces lymphatiques, en piquant avec la canule entre la choroïde et la sclérotique. Cette opération se fera en un point, qui est à peu près à égale distance du bord de la cornée et de l'équateur du bulbe, et qui n'est pas trop rapproché d'une veine entortillée. On emploiera comme masse à injection le bleu de Prusse soluble sans colle, ou bien la masse de

colle-carmin. Les injections réussissent le mieux sur l'œil d'homme, de cochon ou de chien.

Quant à ce qui concerne l'examen des diverses membranes, on coupe la cornée perpendiculairement à sa surface en épargnant son épithélium, et on fait des coupes de face. (V. épithel. p. 41.) En traitant par l'hypermanganate de potasse ou son mélange avec l'alun, on peut isoler les fibres de la cornée.

On examine les corpuscules mobiles de la cornée chez la grenouille ou le triton, sur une cornée que l'on vient d'enlever et que l'on a étendue dans l'humeur aqueuse. On peut encore observer des mouvements pendant 15-50 minutes après l'extirpation.

Le commençant ne les découvrira pas facilement, parce que ce sont des éléments extraordinairement délicats. Il est bon de mettre d'abord au point sur l'épithélium de la cornée, puis avec la vis micrométrique de faire descendre le tube, de manière à être sûr d'avoir la substance propre dans le foyer de la lentille. On a alors un plus grand champ de recherches.

Platine chauffante. L'épithélium récent de la cornée est très beau aux replis. Dans une vue de face, on aperçoit l'épithélium de la membrane de Descemet. On voit le mieux les nerfs de la cornée par la coloration avec le chlorure d'or. Dans ce but, on place la cornée dans une solution de chlorure d'or à 0,5 %.

Elle restera dans un endroit sombre, jusqu'à ce qu'elle soit colorée complètement en jaune; elle est ensuite placée dans de l'eau mélangée à une trace d'acide acétique et exposée à la lumière. Pour éluder au moins en partie les effets du changement de la lumière, au lieu de placer la cornée dans cet acide acétique on emploiera un liquide de réduction qui consiste en 100 volumes d'eau, 1 d'alcool amylique et 1 d'acide formique. Pour ce qui concerne en général la coloration par l'or, on remarquera qu'il est souvent avantageux de placer les préparations fraîches (coupes) d'abord dans de l'acide formique, ensuite dans la solution d'or et après l'imprégnation, de nouveau dans l'acide formique.

Quand la cornée est devenue faiblement violette, elle est placée dans la glycérine et est examinée. Les corpuscules de la cornée et les nerfs se colorent en rouge par l'or.

On peut isoler les corpuscules de la cornée avec leurs prolongements, en dissolvant la substance fondamentale dans une solution d'acide chlorhydrique, que l'on obtient en diluant de l'acide fumant avec le même volume d'eau.

Les préparations deviennent très belles, si l'on a fait précéder cette opération de la coloration par l'or. Si, par exemple, une cornée de grenouille ainsi colorée est placée pendant 24 heures dans cet acide, on obtient un limon rouge, qui consiste en corpuscules de la cornée et en nerfs. Si on le porte sous le microscope, il faut se garder, comme dans cette macération en général, des vapeurs acides qui attaquent les métaux; on ne laissera donc suinter aucun acide de cette espèce du couvre-objet.

Par la coloration à l'argent, les corpuscules de la cornée restent blancs

et la substance fondamentale devient brûnâtre. Dans ce but on place des cornées fraîches, autant que possible celles de grenouilles, pendant un temps très court, dans une solution d'argent à 1/2 ou 1/8 % et on les expose ensuite dans l'eau à la lumière, surtout à la lumière directe du soleil.

On obtient de très belles préparations, si on combine sur la cornée les colorations à l'or et à l'argent : la cornée de grenouille est placée d'abord, pendant 2 minutes, dans un mélange de 95 volumes d'eau et de 5 volumes d'acide acétique du commerce, puis pendant 5 minutes, dans une solution à un 1/2 % de nitrate d'argent. Elle est alors lavée dans le même acide acétique, en outre elle est déposée, pendant 10 minutes, dans une solution de chlorure d'or à 1/5 %, puis de nouveau, pendant 5 minutes, dans cet acide acétique et enfin dans l'eau. Après quelque exercice on réussit au moyen du couteau à cataracte à diviser la cornée ainsi préparée en lamelles, dont les faces sont naturellement parallèles à sa surface.

Ces lamelles sont alors mises sur le porte-objet, ou exposées encore à la lumière, dans un verre de montre, et examinées dans la glycérine.

A peine moins belles que les préparations par l'or, sont les cornées que l'on expose fraîches aux vapeurs d'iode dans une goutte d'humeur aqueuse. Il suffit de mettre le porte-objet, sur lequel repose la cornée, sous une cloche peu élevée, sous laquelle est déposé un petit morceau d'iode.

Pour empêcher le dessèchement de la préparation non couverte, on y dépose encore un verre de montre rempli d'eau. Cela suffit.

Après environ une demi-heure, l'épithélium est fortement coloré en jaune ; on le racle et on expose la cornée à de nouvelles vapeurs. Quand elle est devenue jaune après quelques heures, elle peut être couverte de la lamelle de verre et examinée.

De cette façon, on a appris à connaître les nerfs vus de face ; pour apprécier leurs terminaisons dans l'épithélium, la cornée colorée au chlorure d'or sera coupée dans le sens du méridien aussitôt après la coloration.

Naturellement cette coloration par l'or est d'un emploi fréquent. Le protoplasma et les nerfs principalement se trouvent toujours colorés. Beaucoup se servent au lieu de chlorure d'or, du chlorure d'or et de potassium ; c'est la même façon d'agir.

Pour l'examen de la *sclérotique*, il n'y a aucune méthode particulière à employer.

On voit la *choroïde* et *l'iris* le mieux sur des lapins albinos, après injection. Vue de face.

Par la mise au point, on peut se convaincre de la situation des couches de vaisseaux dans la choroïde. On fait des coupes suivant le méridien, en y comprenant la rétine et la sclérotique. Le stroma se voit sur des yeux durcis incomplètement dans le

liquide de Müller; on peut alors facilement enlever l'épithélium au pinceau. Quant à ce dernier, il est examiné frais et d'après les méthodes ordinaires. Le pigment se dissout dans le liquide de Müller; plus vite dans l'acide chrômique (le temps se compte cependant encore par des mois).

On peut en tirer profit, s'il s'agit d'un examen plus exact des vaisseaux et autres sur les yeux pigmentés.

On ne réussit pas très bien à faire apparaître distinctement les muscles internes de l'œil par une double coloration au moyen de l'acide picrique et du carmin. Un autre moyen de durcissement et de coloration que l'on peut aussi employer ailleurs, et qui agit sur les tissus d'une manière analogue à l'acide picrique, rend ici des services d'autant meilleurs. C'est une solution au 1/8 ou 1/10 % de chlorure de palladium. La solution ne s'obtient qu'en ajoutant une trace d'acide chlorhydrique. Ce moyen colore aussi les muscles en jaune et laisse leurs noyaux, le tissu conjonctif, etc., libres pour la coloration au carmin, de sorte qu'il y a ainsi une double coloration, qui est bonne.

De la *rétine* on se procure d'abord des vues d'ensemble sur des préparations durcies dans le liquide de Müller avec les autres membranes. On fait les coupes et on les colore au carmin. On peut aussi couper la rétine seule. Dans chaque cas, elle doit naturellement être enlevée. On n'a pas recours ici aux méthodes ordinaires, employées avec des tissus moins délicats, mais on agit ainsi : un porte-objet est recouvert d'une couche de térébenthine, alors on y dépose un lit d'une masse de cire et d'huile liquide, qui durcit aussitôt.

Avec un bâton de verre ou une petite pipette, on dispose les gouttes de manière que cette couche ait un bord un peu élevé, comme un vase d'inclusion ordinaire. On y place alors la rétine qui, après le durcissement dans le liquide de Müller, a été mise dans l'alcool pendant un quart d'heure, et on y dépose de la masse à inclusion, jusqu'à ce que le tout ait 3-5 millim. d'épaisseur. On laisse refroidir, on pousse la masse bas du porte-objet, ce qui se fait facilement à cause de la couche de térébenthine, on enveloppe un papier autour de la partie que l'on tient en main, et l'on coupe. Le rasoir est trempé dans la térébenthine

(pas celle de Venise); les coupes qui s'y trouvent sont baignées dans le même liquide sur un porte-objet tout préparé, qui sert à les examiner, sans être couvertes, à un faible grossissement. Elles y s'ajournent jusqu'à ce qu'on reconnaisse de cette manière, que toute la cire, qui souvent imprègne fortement les coupes, est dissoute dans la térébenthine. Il faut souvent plusieurs heures, pendant lesquelles on doit mettre les coupes à l'abri de la poussière. On peut aussi changer la térébenthine, en l'enlevant avec de la toile où il n'y a pas de coupe, et en ajoutant de la nouvelle. Quand on ne voit plus de cire, les coupes sont alors rassemblées dans un petit espace, en les faisant flotter, autant que possible sans les toucher. La térébenthine est enlevée comme plus haut, de sorte qu'il en reste seulement un peu autour des coupes; on place un diaphragme, on ajoute du d'Ammar et l'on met le couvre-objet.

La rétine de brochet fournit de très belles préparations; mais sa texture s'écarte beaucoup de celle de l'homme.

Rétine de différentes régions. Point d'entrée du nerf optique, coupes parallèles et perpendiculaires à sa direction.

Rétine injectée. Vue de face.

Globes colorés des oiseaux et bâtonnets des tritons examinés frais.

On obtient de très beaux résultats, en traitant par l'acide osmique et en dissociant ensuite.

La structure lamelleuse des bâtonnets est très belle chez le triton. La trame du tissu est représentée par la digestion de la trypsine. (V. reins.)

Pour le *crystallin*, le meilleur moyen de durcissement est une solution de sulfate de cuivre bleu de ciel foncé. Après 5-10 jours de durcissement, la lentille a une consistance, qui permet des coupes si petites quelles soient, perpendiculaires à la direction des fibres. On voit alors très bien la mosaïque des fibres du cristallin coupées transversalement. Coupes parallèles aux fibres. Dissociation après le traitement

par la créosote, l'acide chrômique, ou les acides sulfurique ou nitrique dilués.

Organe de l'ouïe. Tympan. Injecté sur le cadavre chauffé, monté en totalité.

Il peut aussi être monté dans son union avec le marteau, si on le laisse étendu dans la térébenthine, jusqu'à ce qu'il ne s'enroule plus sur lui-même, et qu'au moyen du liquide de fermeture et d'éclaircissement, (p.78) employé pour les préparations épaisses, on le cimente dans un espace, qui est fermé en dessous par le porte-objet, au-dessus par le couvre-objet et latéralement par un anneau de bois. Ce dernier peut être fixé au porte-objet au moyen de la colle à verre (1). On voit le mieux les couches du tympan, si l'on prépare ce dernier frais avec l'anneau osseux, et qu'on le place quelques heures dans l'eau. La couche épidermique, qui s'oppose à l'observation, se laisse alors dissoudre; on enlève alors l'eau par l'alcool, et on le place dans la térébenthine. La vue de face donne avec de faibles grossissements et à des mises au point différentes, les couches du tympan. Si l'on fait même vaporiser la térébenthine, l'image reste belle.

Coupes transversales des osselets de l'ouïe, après les avoir décalcifiés dans l'acide chrômique.

Pour se représenter la structure du limaçon et de l'organe de Corti, il faut aussi faire des coupes suivant les règles.

Dans ce but, le limaçon est grossièrement préparé hors du rocher, et placé dans l'acide chrômique, pour avoir en même temps le durcissement de l'organe de Corti et la décalcification des parties osseuses. On choisira des limaçons tout-à-fait frais, autant que possible ceux de cochons d'inde ou de chauve-souris. Après 8—14 jours, on peut faire des coupes. Elles sont, d'après la méthode donnée p. 55 incluses sous la machine pneumatique, après qu'une ouverture, destinée à laisser arriver la masse à inclusion, a été faite pour conduire dans l'intérieur des circumvolutions.

Les coupes sont d'abord faites parallèlement à l'axe du limaçon. La coloration à l'acide picrique est bonne. Les différentes parties, surtout la membrane basilaire, sont belles, si on les traite à l'état frais par l'acide osmique, et qu'on les dissocie ensuite. On coupe aussi les canaux demi-circulaires, après le traitement à l'acide chrômique.

Organe de l'odorat. Coupes transversales par la muqueuse, colorées, injectées, pour voir le tissu caverneux. L'épithélium macère dans une solution de potasse à 23 % ou dans de l'acide chrômique à environ 0,05 %, ou dans de l'alcool à 30 %, ou, et

(1) Du caoutchouc est dissout dans le chloroforme. De même du mastic. Le dernier est filtré et les deux solutions sont mélangées. Le ciment tient admirablement, principalement verre sur verre, mais il sèche très lentement.

c'est préférable, pour les mammifères, les grenouilles, mais non pour les poissons, dans de l'acide osmique à 1/2 ou 1 ‰. Les petits lambeaux de muqueuse restent dans cet acide jusqu'à ce qu'ils soient devenus bruns, alors ils sont placés dans l'eau pendant un jour. On fera attention que, dans ces macérations, le mucus reste adhérent à la préparation. Pour les poissons, on prendra une solution de chrômate d'ammoniaque à 0,07 ‰.

IV. EMBRYOLOGIE.

Le meilleur moyen de durcissement pour les tissus embryonnaires est de l'acide chrômique à environ 0,25 ‰, dont il ne faut pas prendre une trop petite quantité (pour 10 œufs de grenouilles 100 ccm.).

Les embryons durcis dans l'alcool ne peuvent en général pas être employés pour l'examen microscopique. Mais une trop longue action de l'acide chrômique rend les tissus embryonnaires cassants. Aussi faut-il durcir les préparations dans l'acide chrômique et les porter ensuite dans l'alcool, si on veut les conserver plus longtemps. L'acide chrômique sera changé de temps à autre ; on fera également bien de diluer de plus en plus l'acide, en cas de durcissement progressif. Les premiers stades de développement offrent de grandes difficultés à l'examen ; il s'agit alors de faire une série continue de coupes qui passent par tout l'embryon.

C'est alors que le microtôme rend des services. Pour les stades un peu plus avancés, on peut, dans toutes les classes d'animaux, employer avec succès la méthode d'inclusion suivante :

L'embryon, après durcissement, est placé dans une solution très concentrée de gélatine que la chaleur a liquéfiée ; il y reste 1 — 2 jours, pendant qu'elle est tenue liquide. Le but est d'imbiber entièrement l'embryon de colle, de façon que les cavités du corps soient remplies de la masse, qui plus tard se solidifiera. L'embryon est ensuite enlevé et placé sur une plaque de moëlle de sureau, sur laquelle il adhère aussitôt par la colle qui s'est figée. La plaque est mise avec l'embryon dans l'alcool, l'inclusion se fait ensuite dans la cire et l'huile, et la coupe avec la térébenthine, à la manière indiquée. Il faut toujours enlever assez de la masse d'inclusion pour qu'elle ne soit pas rencontrée à la coupe ; cette remarque s'applique aussi à la moëlle de sureau, qui sert de rempart, contre lequel on fait par conséquent les sections.

Poissons.

Pour étudier les premiers stades de développement, il est nécessaire de produire la fécondation artificielle. Dans un grand bassin d'eau, sont recueillis les œufs, par exemple d'une truite, qui sont obtenus par une

légère pression exercée sur le ventre. En même temps le sperme d'un mâle, obtenu de la même façon, est versé dans le bassin. Avec une barbe de plume, on remue le tout.

Au moment où du sang se montre chez la femelle, on exerce la pression. Le bassin doit alors rester environ 2 heures parfaitement tranquille, puis les œufs sont pêchés au moyen d'une cuiller en corne et d'une barbe de plume, et portés dans l'appareil pour la fécondation artificielle. Celui-ci consiste essentiellement en une caisse, dont le fond est couvert de cailloux et qui porte, comme une couche, à 4.5 cm au-dessus de lui, un système de bâtons de verre, qui se trouvent dans un plan horizontal, parallèles les uns aux autres et distants d'environ 2 — 4 m/m. Les œufs viennent se placer sur ces bâtons de verre, de sorte qu'ils ne se touchent pas latéralement.

La caisse a un tube de décharge et un autre, qui amène le liquide. Celui-ci fonctionne de façon que le liquide arrive seulement par gouttes. Il faut examiner chaque jour, et éloigner les œufs morts, qui se reconnaissent à leur opacité.

D'après le nombre des œufs obtenus et la durée de développement — elle comporte chez la truite 72 jours — il faut fixer le nombre des œufs qui doivent être enlevés chaque jour. Au commencement, on prendra les œufs toutes les 12 heures, et on ne tardera pas de les examiner dans un verre de montre, avec le microscope simple, pour constater les phénomènes de segmentation. Les œufs sont placés dans l'acide chromique, qui, lorsqu'il devient brun, doit être changé.

Quand les œufs sont durs, leur membrane s'est soulevée de façon qu'elle se laisse enlever avec la plus grande facilité. On reconnaît alors l'embryon sous cette dernière. Il est coupé avec une partie du vitellus, coloré par le carmin dans cet état, lavé dans l'eau, porté dans l'alcool et la térébenthine et inclus dans une situation favorable à la coupe, dans le mélange de cire et d'huile (rétine), et coupé doucement et soigneusement avec la térébenthine. Il est bon de se servir d'un rasoir, à lame creuse, qui soit couverte d'assez de térébenthine pour que la coupe y surnage. On coupe les embryons, sans pousser le couteau latéralement, de sorte que l'on imite plutôt l'action de râcler que de scier. Il ne faut pas perdre courage, si, dans les premiers temps, chaque coupe se brise. Le tissu embryonnaire est bien, à cause de sa friabilité, le plus difficile à couper. Les coupes baignent aussitôt sur le porte-objet; la térébenthine tout autour est enlevée, remplacée par une goutte de résine d'Amman, et elles y sont montées avec un diaphragme.

Il ne faut pas négliger d'étiqueter aussitôt l'objet, et de marquer la date, qui se rapporte au jour de la fécondation.

Batraciens.

Le frai est recueilli dans des marécages. S'il consiste en des chapelets entiers de gélatine, dans lesquels les œufs sont répandus, c'est un frai de crapaud, si chaque œuf est entouré d'une boule de gélatine, c'est un frai de grenouille.

Il faut recueillir un frai, qui a des œufs encore complètement ronds, car il est seul récent. On peut, dans les premières heures, voir à l'œil nu, la segmentation. Ces œufs segmentés peuvent être conservés comme préparation, si on les durcit dans un liquide, qui consiste en parties égales d'une solution de sulfate de cuivre à 6 % et d'alcool à 20 ou 30 %. Pour 35 grammes de ce mélange, on ajoute encore une goutte de vinaigre de bois rectifié. Après 20 heures, on peut avec facilité séparer la membrane de l'œuf, et conserver, à sa guise, l'œuf divisé. Si on les porte par exemple dans une masse de gélatine fondue très concentrée, à laquelle on ajoute quelques gouttes de glycérine, de manière qu'elles soient versées dans cette substance figée comme sur du verre, on peut les conserver longtemps, propres à être examinés à la loupe. Ce sera parfait naturellement, si la masse est complètement montée sur verre. Il va de soi que l'on peut aussi conserver de cette manière d'autres embryons et des parties d'embryons. Dans des vases plats, les œufs frais se développent, en 6—8 jours, en des têtards qui nagent autour. Il faudra placer au commencement, si possible toutes les 6 heures, les œufs dans de l'acide chromique, plus tard tous les jours, 1, 2 fois. La gélatine est enlevée préalablement.

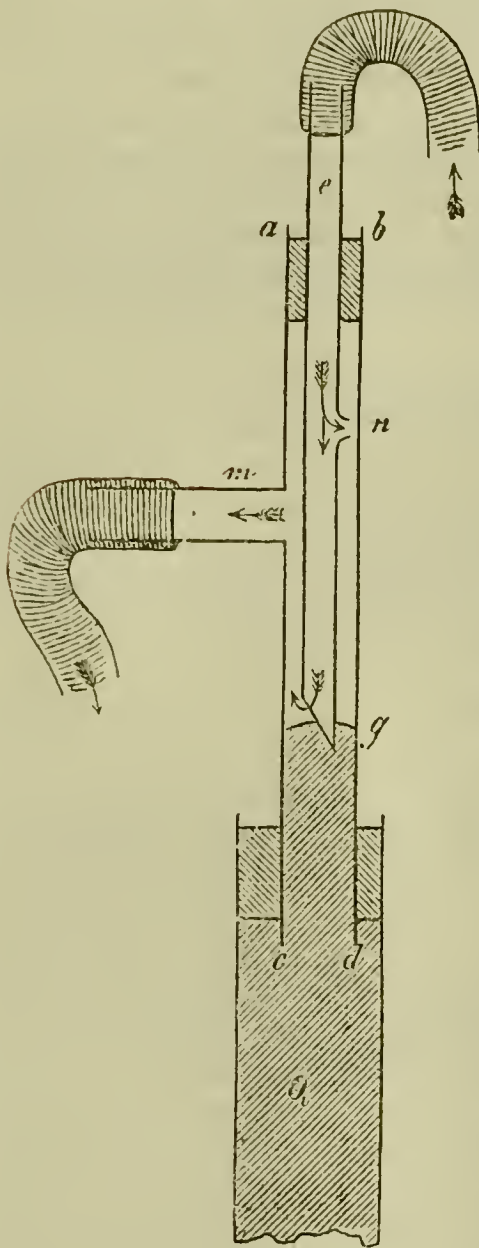
Pour ce qui est de l'orientation sur un œuf durci en vue de l'inclusion et de la direction à donner aux coupes, il faut faire attention aux points suivants : Le creux de la segmentation est toujours situé à la partie supérieure sur l'œuf flottant, et on le rencontre, si l'on divise l'œuf avec le rasoir à partir d'en haut. On divise les œufs d'un stade plus avancé perpendiculairement au milieu d'un canal, en forme de demi-cercle, qui se trouve près du bouchon d'Ecker, visible à la partie inférieure de l'œuf.

La coloration des coupes, à cause de la grande friabilité de l'œuf des batraciens, est plus difficile que pour les autres embryons ; mais elle n'est pas aussi nécessaire, puisque les éléments sont nettement marqués. Les coupes peuvent donc immédiatement arriver sur le porte-objet — elles sont naturellement faites avec de la térébenthine.

Oiseaux.

Des œufs de poule fécondés sont donnés à couvrir à une poule, ou sont placés dans une couveuse, après avoir eu soin de noter la date sur la coque. Comme couveuse, on peut, en cas de nécessité, se servir d'un vase en fer blanc doublé d'ouate, qui peut être fermé par un couvercle, et sous lequel brûle une petite lampe à alcool. La mèche de cette dernière doit être assez élevée, pour que la température du vase oscille entre 38° et 40° C; on la lira sur un thermomètre, qui fait saillie par le couvercle. Cet appareil, pour remplir son but, doit séjourner dans un endroit à température toujours uniforme. Il ne faut qu'aucun courant d'air produise de refroidissement. Des oscillations de quelques degrés, si elles ne durent pas trop longtemps, ne nuisent pas. On agira plus sûrement avec l'appareil suivant. Un vase en fer blanc est rempli d'eau environ jusqu'au 2/3 de sa hauteur. Le tiers supérieur cache une annexe, qui est remplie d'ouate et est destinée à recevoir les œufs. Sous le vase, brûle une petite flamme de gaz qui, indépendante de la pression du gaz et de la tempéra-

ture de la chambre, maintient l'eau à la même chaleur, en se régularisant en quelque sorte elle-même. Cela se fait par l'appareil suivant.



Un tube *Q* large de 8—10 millimètres, fermé en dessous est rempli de mercure et plonge dans l'eau de la couveuse. Son extrémité supérieure fait saillie hors de celle-ci, et porte un tube *a, b, c, d* étroit (peut être large de 4 millimètres) qui est appliqué contre sa paroi ; jusque dans son intérieur, s'élève la colonne de mercure. Dans ce tube étroit est enfoncé un autre très effilé qui touche, par son ouverture obliquement repassée, le sommet de la colonne de mercure *g*. Il est fixé très intimement à la partie supérieure du tube étroit *a, b*, par un bouchon. Par ce tube très effilé se repand le gaz, qui pénètre, si la colonne de mercure n'est pas trop élevée, dans le tube étroit (flèche en *g*). De celui-ci, il est conduit au bec de gaz par un appendice *m*, qui forme un angle. Le mécanisme de cet appareil est facile à saisir. Si la température de l'eau est trop élevée, la colonne de mercure monte et ferme l'ouverture du tube très effilé par lequel le gaz arrive au bec. Si la température baisse, la colonne de mercure descend et rend tout-à-fait libre l'ouverture obliquement dirigée du tube très effilé, de sorte qu'il arrive alors plus de gaz. Pour rendre impossible l'extinction complète de la flamme, à côté, on offrira au gaz une voie, qui conduise directement au bec, indépendamment des oscillations de la colonne de mercure. Elle doit être assez étroite, pour que, si la colonne de mercure bouche la voie normale, il arrive précisément assez de gaz

Fig. 7.

au bec pour empêcher la flamme de s'éteindre. La manière la plus simple, est de limer ou d'aiguiser dans le tube très effilé un petit trou *n*, qui laisse alors passer directement le gaz dans le tube étroit, et de là plus loin. En élevant ou en abaissant le tube *e*, on peut augmenter ou diminuer la chaleur de la couveuse. Si l'on doit chauffer une très grande couveuse, on peut, au lieu de cette petite communication, employer une petite flamme indépendante qui n'est pas réglée, mais qui, dans aucun cas, n'est en état de produire la température nécessaire. A côté, un deuxième grand bec de gaz avec un régulateur pourvu d'un grand indicateur, à la façon de celui qui vient d'être décrit, sert à produire la chaleur. Il peut alors être rendu très sensible, et il doit être incliné obliquement vers le petit bec, de sorte que, si le gaz vient à manquer, celui qui arrive après, s'allume toujours à la petite flamme.

La durée de la couvée des œufs de poule est de 21 jours. Les stades les plus difficiles sont naturellement ceux des premières heures et des premiers jours. L'enlèvement de l'embryon, qui, comme on sait, nage toujours au-dessus du vitellus, si avant l'ouverture on ne tourne pas et retourne trop l'œuf est seulement possible, quand on l'a coupé avec des ciseaux tout autour de la place du germe. Pour avoir plus facile, on prendra une cuiller en corne ou un verre de montre. Dès quand l'œuf se brise et que la membrane se déchire, il faut avoir soin de ne pas détruire l'embryon, parce que celui-ci y est souvent fort adhérent. Dans les premiers jours, on placera tout le vitellus séparé de l'albumine de l'œuf dans de l'acide chromique, et on séparera seulement après quelques jours, l'embryon du vitellus. On peut enlever la membrane du vitellus par le lavage.

Les embryons des jours suivants sont dépouillés du vitellus avec la cuiller en corne, lavés dans du ClNa à 1 %, et durcis dans l'acide chromique. Les embryons des 8 premiers jours peuvent, à cause de leur petitesse, être colorés in-toto avant la coupe. Le reste du traitement est celui qu'on emploie ordinairement. On peut durcir dans l'acide osmique de tous petits embryons (jusqu'à ce qu'ils prennent une faible coloration), puis les conserver in-toto dans le d'Amarr.

Mammifères.

Les premiers stades de développement sont difficiles à étudier, parce qu'on ne peut pas facilement se procurer le matériel. On doit observer la fécondation elle-même chez des chiens ou des lapins. Chez les derniers, on l'a en sa puissance, pour autant que les animaux, s'ils ont été séparés longtemps, s'accouplent aussitôt à leur rencontre. Si l'on tue alors la femelle et que l'on examine, avec la loupe ou les lunettes de dissection, la surface interne des trompes, que l'on a étendues sur une plaque de verre, et dont on fait disparaître les plis par une aiguille, on réussit habituellement à trouver les œufs. Les œufs du chien plus gros et moins transparents sont d'autant plus faciles à trouver. On les cherche, à la lumière directe, en étendant la trompe avec des aiguilles sur une table de cire noire, après l'avoir fendue avec précaution au moyen de petits ciseaux. Les œufs apparaissent comme des petits points blancs, et se trouvent habituellement serrés les uns contre les autres.

Le traitement des embryons des stades ultérieurs est le durcissement ordinaire dans de l'acide chromique. L'inclusion se fait en général d'après la méthode donnée p. 88.

MÉTHODES.



- Détermination du pouvoir grossissant d'un microscope 7.
Détermination de sa finesse 7.
Détermination de la grandeur véritable d'un objet microscopique 8.
- Le dessin des objets microscopiques 8.
Détermination du grossissement d'un tel dessin 9.

Durcissement et Macération.

- Acide chlorhydrique 24, 35, 75, 85.
— chlorhydrique et alcool 76.
— chlorhydrique et glycérine 75.
— chrômique 42, 51, 62, 78, 85, 87.
— — et chrômate double de potasse 79.
— nitrique 55, 58.
— — et chlorate de potasse 75.
— osmique 34, 40, 66, 81, 92.
— sulfurique 87.
- Alcool 25, 52, 88.
Alun 58, 85.
Chlorure de palladium 85.
Chrômate double de potasse 79, 80.
— — d'Ammoniaque, 79, 80.
- Congélation 51.
Créosote 87.
Dessiccation 43.
Digestion 63, 65.
Eau de baryte 38.
Eau de chaux 38.
Hypermanganate de potasse 38, 85.
Lessive de potasse 34, 71, 87.
Liquide de Müller 55, 58, 81.
Nitrate de soude 42.
Sel de cuisine 42, 69.
Sulfate de cuivre 86.
Teinture d'iode 81.
Vinaigre et créosote 43.

Coloration.

- Acide osmique 40, 66, 69.
Acide picrique 48, 87.
Acide pyrogallique 70.
Bleu d'aniline soluble 40, 65, 79.
Bleu d'aniline insoluble 65.
Brou de noix, 70.
Carmin 45, 54, 65, 76, 78.
Chlorure de palladium, 85.
Coloration avec l'or 79, 85, 84.
Coloration de préparations durcies dans l'acide chrômique 78.
Double coloration avec le bleu d'aniline et le carmin 40, 65.
Double coloration avec l'argent et l'or 84.
- Double coloration avec le carmin et l'acide picrique 48.
Double coloration avec le chlorure de palladium et le carmin 85.
Eosine 70.
Fuchsine 70.
Hématoxyline (bois de Campêche) 67.
Nitrate d'argent 36, 42, 71, 84.
Picrocarmin 50.
Safran 70.
Solution de carmin de Beale 46.
Vapeurs d'iode 84.

Eclaircissement des coupes.

- | | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| Acide acétique 24, 33, 40. | Créosote et vinaigre 43. |
| Acide tartrique 24. | Essence de girofle 61, 78. |
| Chloroforme 81. | Eclaircissement en général 10. |
| Collodion 34. | Glycérine 18, 19. |
| Créosote et térébenthine 49. | Huile de térébenthine 26, 49, 60. |

Fermeture. Montage des préparations.

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Acétate de potasse 35. | Bordure avec la gomme-laque 20. |
| Baume de Canada 25. | Glycérine 18. |
| Créosote et glycérine 19, | — créosote 19. |
| — et térébenthine 49. | Mastic 19, 26. |
| Colle 88. | — dans l'essence de girofle 78. |
| Dammar dans le chloroforme 26. | Liquide de Farrant 59. |
| Diaphragme 27. | Montage d'œufs de batraciens 90. |
| Encadrement avec le bitume de Judée | Montage de nerfs et de muscles d'or- |
| 19. | ganes 35. |
| — avec la résine de dammar 19. | Résine de dammar 25. |
| — avec le ciment anglais 20. | |

Inclusion.

- | | |
|----------------------------|-----------------------------------|
| Cire et huile 54. | Gomme arabique et glycérine 56. |
| Cire stéarine et huile 54. | Inclusion sous la machine pneuma- |
| Colle 88. | tique 55. |
| Colle et glycérine 56. | Paraffine 52. |
| Foies durcis 20. | Savon 55. |
| Gomme arabique 55. | |

Injection.

- | | |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| Appareils d'injection 56. | Injection double du foie 69. |
| Injection avec pression mesurée 57. | — double du poumon 70. |
| — d'Alcana dans la térébenthine 74. | — d'une solution d'argent 71. |
| — de bitume de Judée 69. | — en général 56. |
| — de bleu de Prusse dans la colle 56. | — interstitielle 62, 76. |
| — de carmin dans la colle 58, 76. | — par la piqûre 77, 81. |
| — de jaune de chrome 58. | — spontanée 60, 75. |
| — de sulfate de soude indigotique 76. | — sur l'animal vivant 60, 76. |
| — des vaisseaux lymphatiques 73, | Masses à injection 56, 69, 70. |
| 77, 81, 82. | |
-

TABLE ALPHABÉTIQUE.

- Acétate de potasse 55.
Acide acétique comme réactif microscopique 24, 55, 40.
— son action sur les noyaux 24.
Acide borique ajouté au sang 11.
Acide chlorhydrique comme moyen de macération 24, 55, 76, 85.
— et alcool comme moyen de macération 76.
— et glycérine comme moyen de macération 75.
— pour décalcifier 21.
— pour représenter les disques de Bowmann 24.
Acide chromique comme moyen de durcissement 51, 61, 62, 78, 85.
— comme moyen de macération 42, 88.
— comme moyen de solution pour pigment 85.
— et chrômate double de potasse comme moyen de durcissement 79.
— pour décalcifier 21, 25, 87.
Acides de la bile. Action sur les corpuscules du sang 11.
Acide formique dans la coloration par l'or 85.
Acide nitrique comme moyen de macération 55, 58.
— et chlorate de potasse comme moyen de macération 75.
Acide osmique 34, 40, 66, 81, 92.
Acide picrique comme moyen de coloration 48, 87.
— et carmin comme double coloration 48.
— pour décalcifier 21, 25.
Acide pyrogallique comme moyen de coloration 70.
Acide sulfurique comme moyen de macération 87.
Acide tartrique 24, 58, 40.
Albumine de poule comme liquide additionnel 25.
Alcool absolu, préparation en petit 47.
— action sur les corpuscules du sang 11.
— comme moyen de durcissement 51.
— comme moyen de macération 25, 88.
— pour produire le narcotisme 15.
Alcana dans l'huile de térébenthine comme masse d'injection 74.
Alun et hypermanganate de potasse comme moyen de macération 58, 82.
Ammoniaque, chrômate double 79, 88.
Appareil digestif 62.
Appareils d'injection 58.
Appareil d'injection de Hering 58.
Argent et or comme double coloration 84
Baryte 58.
Bâtonnets de la rétine 86.
Baume de Canada 25.
Bile-action sur les corpuscules du sang 11.

- Bitume de Judée comme masse à injection 69.
 Bitume de Judée pour encadrer le couvre-objet 49.
 Bleu d'aniline avec carmin comme double coloration 40, 65.
 — insoluble 65.
 — soluble 40, 65, 79.
 Bleu de Prusse et colle comme masse à injection 56.
 Bleu de Prusse soluble pour injection 56.
 Bois de Campêche comme moyen de coloration 68.
 Bordure de l'épithélium de l'intestin 66.
 Bouchon pour enclaver 22.
 Bourgeons gustatifs 63.
 Brou de noix comme moyen de coloration 70.
 Camera lucida 7, 8.
 Canalicules urinifères, leur isolement 74.
 Canaux semi-circulaires du labyrinthe 87.
 Capillaires biliaires injectés 69.
 Capsules surénales 69.
 Carmin avec le bleu d'aniline comme double coloration 40, 65.
 — avec le chlorure de palladium comme double coloration 85.
 — avec acide picrique comme double coloration 48.
 — comme moyen de coloration 45, 54, 65, 76, 79.
 Cartilage 46.
 Cartilage de l'oreille, 20.
 Cavité buccale 62.
 Cellules adélomorphes 62, 65.
 Cellules à cils vibratiles 42.
 Cellules de graisse d'animaux affamés 41.
 Cellules délomorphes 65.
 Cellules de recouvrement 65.
 Cellules du sympathique 58.
 Cellules ganglionnaires 57.
 Cellules nerveuses 57.
 Cellules principales des glandes à pepsine 65.
 Cerveau 80.
 Chambre à gaz 42.
 Chambre humide 43.
 Chaux 58.
 Cheveu et follicule pileux 50.
 Chlorate de potasse et acide nitrique comme moyen de macération 75.
 Chloroforme-action sur les corpuscules du sang 41.
 Chloroforme comme moyen d'éclaircissement 81.
 Chlorure de palladium 85.
 Chlorure d'or et de potassium 79, 84.
 Chlorure de palladium et carmin comme coloration double 85.
 Choroïde 84.
 Chrômate d'ammoniaque 79, 88.
 Chrômate double de potasse 79, 80.
 Chrômate double d'ammoniaque et acide chrômique comme moyen de durcissement 79.
 Chyle dans les follicules de l'intestin 66.
 Chyle dans le parenchyme des villosités 66.
 Ciment anglais 20.
 Circulation du sang sur l'animal vivant 44.
 Cire et huile comme moyen d'inclusion 54.
 Cœur 71.
 Colle à verre 87.
 — colorée par le carmin 58, 76.
 — et glycérine comme moyen d'inclusion 56, 58.
 — pour conserver 88.
 — pour inclusion 88.
 Collodion 54.
 Coloration à l'argent 56, 42, 70, 85.
 — à l'hématoxyline 68.
 — au carmin d'Obersteiner 79.
 — au chlorure d'or 79, 81.
 Compresseur 25.
 Conduits biliaires 69.
 Congélation comme durcissement 51.
 Consistance des globules rouges du sang 42.
 Cornée 82.
 Corpuscules blancs du sang 45.

- Corpuscules blancs à une haute température 13.
 — de la cornée 85.
 — de la rate de Malphigi 75.
 — de Meissner 50.
 — de Pacini 50.
 — des muscles 24.
 — des os 21.
 — du rein de Malphigi 75.
 — du tact 50.
 — rouges du sang — leur consistance 12.
 — leurs changements par des décharges électriques 12.
 — leurs modifications par l'addition d'eau, d'urée, de sels alcalins, d'acides de la bile, de bile, d'éther, de chloroforme, d'alcool 11.
 — rouges du sang 10.
 Coupe d'embryons 88,89.
 — en général 16,80,84.
 Coupes microscopiques — Comment on les fait 16,80,85,88,89.
 Couveuse 90.
 — avec régulateur indépendant 91.
 Créosote comme moyen de macération 87.
 — et glycérine comme moyen de fermeture 19.
 — et térébenthine comme moyen de fermeture 49.
 — et vinaigre 45.
 Creux de la segmentation 90.
 Cristaux de Teichmann 14.
 — d'hémine 14.
 — d'hémoglobine 15.
 — du sang 14.
 Croissants des glandes salivaires 67.
 Cryptes de Lieberkühn 66.
 Cylindre de l'axe des fibres nerveuses 33.
 Décalcification par l'acide chromique 21,23,87.
 — par l'acide chlorhydrique 21.
 Décharges électriques — Action sur le sang 12.
 Dents 22.
 Déplacement d'objets microscopiques 11
 Dessin d'objets microscopiques, détermination de leur grossissement 8.
 Des très grandes coupes 78.
 Développement des fibres musculaires striées transversalement 33.
 Développement des muscles 33.
 Diaphragme 27.
 Diaphragme 6.
 Digestion comme méthode histologique 63,64.
 — de la pepsine pour macérer 64.
 — de la trypsine pour macérer 64.
 — pancréatique 64.
 Dikatopter 7,8.
 Disques de Bowmann 24.
 Double coloration—Voir méthodes.
 — injection du foie 69.
 — injection du poumon 70.
 Durcissement d'embryons 88.
 — des préparations—Voir méthodes.
 Eau-action sur les corpuscules du sang 11.
 Eau-effet nuisible sur les objets frais 17.
 Eclaircissement des coupes (voir méthodes).
 Eclairage des objets microscopiques 5.
 Éléments nerveux 34.
 Embryologie 88.
 Embryons d'oiseaux 90.
 Encadrement des couvre-objets (voir méthodes).
 Enclavement des préparations 21.
 Endothéliums 39,42,70.
 Eosine 71.
 Epithéliums 41.
 — cylindrique 42.
 — de la choroïde 84.
 — de la cornée 41.
 — des poumons 70.
 — pavimenteux 41.
 Espaces lymphatiques de l'œil injectés 82.
 — lymphatiques périvasculaires et péricellulaires 80.
 Essence de girofle avec mastic comme moyen de fermeture 78.
 — de girofle 61.
 Estomac 63.
 Éther, son action sur les corpuscules du sang 11.

- Excitation électrique sous le microscope 12.
 Fécondation artificielle des œufs de poisson 88.
 Fermeture des coupes (voir méthodes).
 Fibres du cerveau 54.
 — du sympathique 54.
 — élastiques 40.
 — musculaires dans la lumière polarisée 28.
 — — lisses 33.
 — — striées transversalement 23.
 — — vivantes 24.
 — nerveuses 54.
 — nerveuses à double contour. Leur division 56.
 — spirales des cellules du sympathique 58.
 Fibrilles des fibres musculaires 23.
 — de tissu conjonctif—leur représentation 58.
 Finesse de l'image microscopique 7.
 Flamme de gaz indépendante 91.
 Foie 68.
 Foie comme moyen d'inclusion 20.
 Foie de serpent 69.
 Forme de mûre des corpuscules du sang 10.
 Forme lenticulaire des corpuscules du sang, son action optique 10.
 Frai de batraciens 89.
 Fuchsine 70.
 Ganglion de Gasser de la grenouille 57.
 Ganglions spinaux 37.
 Gaz, leur action sur le sang 12.
 Gélatine pour conservation 90.
 Gélatine pour inclusion 88.
 Glande pituitaire 68.
 Glandes à pepsine 65.
 Glandes de la digestion 66.
 Glandes de Peyer 66.
 Glandes lymphatiques 72.
 — injectées 75.
 Glandes muqueuses 65.
 Glandes salivaires 67.
 Glandes sans conduit excréteur 69.
 Glandes sébacées 50.
 Glande sous maxillaire, excitée ou non 67.
 Glandes sudoripares 43, 50.
 Glande thyroïde 73.
 Glycérine avec acide chlorhydrique comme moyen de macération 75.
 — comme moyen d'éclaircissement 18, 19.
 Glycérine et colle ou gomme comme moyen d'inclusion 56.
 Glycérine et créosote comme moyen de fermeture 19.
 Gomme arabique comme moyen d'inclusion 55.
 Gomme arabique et glycérine comme moyen d'inclusion 56.
 Gomme laque pour encadrer le couvre-objet 20.
 Gonflement des corpuscules sanguins par l'addition de réactifs 11.
 Gonflement du tissu conjonctif dans l'acide acétique 58.
 Graisse 41.
 Grandeur des objets microscopiques, détermination 7.
 Gros intestin 67.
 Hémoglobine, sortie des corpuscules du sang 13.
 Huile de térébenthine du commerce 26.
 — térébenthine de Venise 27, 60.
 Humeur aqueuse comme liquide additionnel 24.
 Hypermanganate de potasse 58, 83.
 — et alun comme moyen de macération 58, 83.
 Inclusion (voir méthodes).
 Injection 56.
 — avec le beurre de cacao 68.
 — avec pression calculée 57.
 — d'une solution d'argent 71.
 — d'alcanas dans la térébenthine 74.
 — de sulfate de soude indigotique 76.
 — interstitielle 62, 76.
 — sur l'animal vivant 60, 76.
 — par la piqûre 77, 81.
 — spontanée 60, 75.
 Instruments 1.
 Intestin grêle 66.
 Iris 84.
 Jaune de chrome pour injection 58.

- Kystes colloïdes, sang dans ceux-ci 12.
 Langue de grenouille, circulation dans celle-ci 15.
 Larynx 70.
 Lentille 86.
 Lentilles à immersion 3.
 Ligament de la nuque 40.
 Limaçon 87.
 Limaçon et organe de Corti 87.
 Limage des dents 22.
 Limage de petites lamelles osseuses 21.
 Limage des os 21.
 Liquide de Farrant 59.
 Liquide de Müller 55, 58, 81.
 Liquide de réduction 81.
 Liquides additionnels pour les objets frais 24.
 Liquides de macération (voir méthodes).
 Liquides séreux comme liquides additionnels 24.
 Loupe 2.
 Loupe montée 2.
 Lunettes pour dissection de Brücke 2.
 Maniement du microscope 2.
 Masse de carmin pour injection 58, 76.
 Masse de colle pour injection 56, 76.
 Masses à injection 56, 76.
 Mastic dans l'alcool 19.
 — dans l'essence de girofle comme moyen d'inclusion 78.
 — dans le chloroforme 26.
 Matière colorante du sang, sortie des corpuscules 11.
 Membrane intime 72.
 Mésentère, circulation dans ce dernier 15.
 Mica au lieu de couvre-objet en verre 3.
 Micromètre à vis 8.
 Micromètre oculaire 8.
 Microscope à polarisation 28.
 Microtôme 80.
 Moëlle des nerfs colorée avec l'acide osmique 54.
 Moëlle de sureau pour enclaver 20.
 Moëlle épinière 78.
 Moyens de coloration (voir méthodes).
 Nageoire de la grenouille, circulation 15.
 Nageoires des poissons, circulation dans celles-ci 15.
 Nerf optique 86.
 Nerfs de la cornée 85.
 Neurokératine 55.
 Nitrate d'argent 56, 42, 71, 84.
 Nitrate de soude pour macérer 42.
 Nitre pour macérer 42.
 Oedème artificiel 62.
 OEil 81.
 OEsophage 63.
 OEufs de batraciens 90.
 OEufs de mammifères 92.
 OEufs de poissons 88.
 OEufs en segmentation conservés 92.
 Oikoid des corpuscules sanguins de triton 11.
 Or et argent comme double coloration 84.
 Organe de Corti 87.
 Organe des sens 81.
 Organe de l'ouïe 87.
 Organe de l'odorat 87.
 Organes de la respiration 70.
 Organe en bâtonnets de l'épithélium de l'intestin 66.
 Organes génitaux de la femme 77.
 — de l'homme 76.
 Origine des fibres nerveuses de Gerlach dans le cerveau 81.
 Origine du réseau nerveux du même dans la moëlle épinière 79.
 Os 21.
 Osselets de l'ouïe 87.
 Ossification 21.
 Pancréas 68.
 Papilles de la langue 62.
 Paraffine comme moyen d'inclusion 52.
 Parenchyme de villosités injecté 66.
 Passage du pinceau sur les coupes 73.
 Peau 45.
 Petite cuiller, sa fabrication 1.
 Petites artères 72.
 Petites veines 72.
 Petits vaisseaux 72.
 Picrocarmin 50.
 Pigment, sa solution 85.
 Pipettes, leur fabrication 1.
 Pisciculture 89.

- Platine chauffante 13.
 — pour excitation électrique sous le microscope 12.
 Plexus nerveux d'Auerbach 67.
 — de Meissner 67.
 Potasse comme moyen de macération 33, 71, 87.
 Poumons 70.
 Poumons de grenouille, circulation dans ceux-ci 15.
 Pouvoir grossissant d'un microscope 7.
 Pulpe de la rate 75.
 Prisme à dessin 7.
 Rasoir, son aiguisage 1.
 Rate 74.
 Reins 75.
 Réseau nerveux de Rindfleisch dans le cerveau 81.
 Résine de dammar pour encadrer les couvre-objets 19.
 Rétine 85.
 Révolver 2.
 Safran comme moyen de coloration 70.
 Salive comme liquide additionnel 24.
 Sang 10.
 — sous l'influence des gaz 12.
 Sarcolemme 24.
 Sarcoblastes 33.
 Savon comme liquide d'inclusion 55.
 Savon transparent 55.
 Sclérotique 84.
 Segmentation des œufs 90.
 Sel de cuisine comme liquide additionnel 25.
 Sel de cuisine pour macérer 34, 69.
 Sels alcalins. Effet sur le sang 11.
 Sérum de sang comme liquide additionnel 24.
 Sérum iodé 24.
 Solution de carmin de Beale 46.
 Solution de chlorure de sodium comme liquide additionnel 34.
 — comme moyen de macération 42, 67.
 Spermatozoaires 75.
 Stéarine, cire et huile comme moyen d'inclusion 34.
 Structure des bâtonnets de la rétine 86.
 Substance unissante colorée par l'argent 71.
 Sucre comme liquide additionnel 77.
 Sulfate de cuivre comme moyen de durcissement 86.
 Système génito-urinaire 75.
 — nerveux central 78.
 — vasculaire 71.
 — intermédiaire de la rate 74.
 Teinture d'iode comme moyen de durcissement 81.
 Tendons 38, 39.
 Térébenthine de Venise 27, 60.
 — et créosote comme liquide d'éclaircissement et d'inclusion 49.
 Térébenthine ordinaire 26.
 Terminaison des nerfs dans les muscles striés transversalement 25, 36.
 Test-objects 7.
 Thymus 75.
 Tissu adénoïde 74.
 Tissu propre des reins 75.
 Tissu conjonctif 38.
 — Dissolution de ce dernier 39, 76.
 Tissu conjonctif sous l'action de l'acide acétique 24.
 Trachée 65, 70.
 Traitement des coupes 20, 84.
 Tubercule de Doyère 36.
 Tympan 87.
 Urée, action sur les corpuscules du sang 11.
 Urètre 76.
 Urine comme liquide additionnel 24.
 Vapeurs d'iode 84.
 Vaisseaux et espaces lymphatiques du cerveau injectés 81.
 — leur structure 71.
 — lymphatiques 72.
 Verre de cobalt pour corriger la lumière rouge de la lampe 6.
 Vésicule biliaire 69.
 Vessie 76.
 Villosités de l'intestin grêle 66.
 Vinaigre de bois pour décalcifier 21.
 — et créosote 45.
 Voies urinaires injectées 76.
 Zoïd de corpuscules sanguins de triton 11.
 Zoospermes 77.



